

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir le titre de Docteur de l'Université

(mention Sciences)

par

Issiaka Zindibala KABORE

1^{re} Thèse : Nouveaux types d'Alcaloïdes isolés des feuilles
de *l'Holarrhena Antidysenterica* Wall. :
Les Amino-Glyco-Stéroïdes, Holantosines A et B.

2^{me} Thèse : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 18 Février 1970, devant la Commission d'Examen

Président : { S. DAVID

Examineurs { M.-M. JANOT
M. FETIZON
R. GOUTAREL

1970

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY

UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir le titre de Docteur de l'Université

(mention Sciences)

par

Issiaka Zindibala KABORE

1^{re} Thèse : Nouveaux types d'Alcaloïdes isolés des feuilles
de *Holarrhena Antidysenterica* Wall. :
Les Amino-Glyco-Stéroïdes, Holantosines A et B.

2^{me} Thèse : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 18 Février 1970, devant la Commission d'Examen

Président : { S. DAVID

Examineurs { M.-M. JANOT
M. FETIZON
R. GOUTAREL



A MONSIEUR MAURICE-MARIE JANOT

Membre de l'Institut

Membre de l'Académie Nationale de Médecine

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Directeur de l'Institut de Chimie des Substances

Naturelles du Centre National de la Recherche

Scientifique

qui m'a fait l'honneur de m'accueillir
dans son laboratoire et m'a prodigué
tant de marques d'intérêt et de
bienveillance

En témoignage de respectueuse et profonde gratitude.

A MONSIEUR SERGE DAVID

Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay

qui a bien voulu me faire l'honneur
de présider le jury de cette thèse

A MONSIEUR MAURICE-MARIE JANOT

Membre de l'Institut

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

A MONSIEUR MARCEL FETIZON

Professeur à la Faculté des Sciences d'Orsay

A MONSIEUR ROBERT GOUTAREL

Directeur de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui ont accepté de juger ce travail

En témoignage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR ROBERT GOUTAREL

Directeur de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui m'a confié le sujet de cette thèse
et n'a cessé d'en guider la réalisation
avec grande compétence et bienveillance

En témoignage de respectueuse et profonde gratitude.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551501_0001

A MONSIEUR QUI KHUONG-HUU

Maître de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui a dirigé ce travail avec tant
de bienveillance et de compétence

En témoignage de respectueuse et profonde gratitude.

A MONSIEUR CLAUDE MONNERET

Chargé de Recherche au Centre National
de la Recherche Scientifique

qui s'est montré pour moi un ami
par son aide constante au cours de
ce travail

En témoignage de profonde amitié et de sincère gratitude.

A MES PARENTS

A MA FEMME

qui ont constamment soutenu mes
efforts

En témoignage de toute mon affection et de ma
profonde reconnaissance.

A MA FAMILLE

A MES AMIS

AVANT - PROPOS

Les moyens modernes d'investigation, appliqués à l'analyse structurale des composés définis d'origine naturelle -spectrométries de R. M. N. , de masse, dichroïsme circulaire, etc...-, permettent de déterminer, de façon rapide et élégante, de nouvelles structures dans une série donnée ; il n'en reste pas moins vrai que l'isolement et la purification sont souvent des étapes laborieuses et lentes.

Les structures établies sont confirmées soit par synthèses partielles, soit par dégradations chimiques du composé en un produit connu ; ainsi, la chimie des substances naturelles contribue au développement de la chimie organique.

Partant d'un produit pur et de structure bien établie, les premières recherches pharmacodynamiques et biologiques pourront ainsi être entreprises avec précision.

A ces titres divers, les Holarrhena constituent un genre botanique abondamment étudié, mais il restait encore beaucoup à faire dans ce domaine puisque c'est l'examen chimique des feuilles de H. antidysenterica qui fait l'objet de ce travail.

Avant de commencer cet exposé, je tiens à remercier :

Mme C. CONREUR, qui m'a témoigné tant d'amitié et de gentillesse tout au long de ce travail ;

Le Centre National de la Recherche Scientifique qui a permis la réalisation matérielle de ce travail ;

MM. P. BOUAH, A. YAPO et tous les membres du service du Professeur M. -M. JANOT à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles qui, à des titres divers, m'ont aidé et conseillé ;

Le service de Microanalyse de la Section de Gif s/Yvette ;

Le service de spectrométrie de masse, le Docteur W. VETTER pour les mesures en spectrométrie de masse à haute résolution ;

Mmes L. ALAIS et A. KORNPROST pour l'exécution des spectres de R. M. N.

Le Docteur L. F. JOHNSON, des Laboratoires VARIAN à Palo-Alto, qui a réalisé les spectres de R. M. N. à 220 MHz ;

M. P. BEZIAU, Directeur de la Franco-Indian Company à Bombay, qui nous a fourni les feuilles d'Holarrhena antidysenterica, utilisées dans ce travail ;

Et, plus particulièrement, mes camarades de laboratoire :

C. TCHERNATINSKY, A. PANCRAZI, J. EINHORN,
J. M. TEKAM et P. CHOAY, pour leur amitié et leurs
discussions qui m'ont été profitables.

Le plan adopté pour ce travail est le suivant :

	Page
AVANT-PROPOS	1
INTRODUCTION	5
GENERALITES SUR LES APOCYNACEES	7
GENERALITES SUR LE GENRE <u>HOLARRHENA</u>	9
 <u>EXTRACTION ET ISOLEMENT DES ALCALOIDES</u>	
I - Obtention des bases brutes	11
II - Isolation des alcaloïdes	12
 <u>ETUDE DES ALCALOIDES ISOLÉS</u>	
I - <u>Amines stéroïdiques</u> -	
1) - Kurchalimine	16
2) - Kurcholine	22
3) - Kurchalinine	25
II - <u>Génines</u> -	
1) - Anhydroholantogénine	30
2) - Holantogénine	35
III - <u>Amino-glyco-stéroïdes</u> ¹	
1) - N-acétylholantosine A	37
2) - N-acétylholantosine B	39
 <u>Interconversions entre les N-acétylholantosines A et B</u>	44
 <u>Etablissement de la structure de la N-acétylholantosine B</u>	
1) - Méthanolyse acide	47
a) - Fraction non azotée	48
b) - Fraction azotée	50

2) - Ouverture acétylante en présence d'acide p-toluène sulfonique	
a) - Fraction non azotée	50
b) - Fraction azotée	53
3) - Détermination de la structure de l'amino-sucres :	
. à partir du spectre à 220 MHz	54
a) - configuration relative	54
b) - configuration absolue	56
. à partir de la N-acétyl D-holosamine (β-méthylglycoside)	58
a) - étude du β-méthylglycoside obtenu par méthanolyse acide de la N-acétylholantosine B	58
b) - étude de l'α-méthylglycoside de synthèse	60
c) - règle de Houdson	61
PARTIE EXPERIMENTALE	65
CONCLUSION	92
BIBLIOGRAPHIE	94

INTRODUCTION

Bien qu'appartenant à la sous-famille des Plumiéroïdées, le genre Holarrhena présente des caractères botaniques qui le rapprochent des Echitoïdées, et le botaniste PICHON a considéré ce genre comme étant la souche des Echitoïdées (3).

Il est ainsi logique de considérer le genre Holarrhena, situé à la frontière des deux sous-familles, comme présentant un grand intérêt ; l'étude chimique de ces plantes et des genres voisins doit permettre une révision chimiotaxonomique, c'est-à-dire basée sur leurs constitutions chimiques. C'est ainsi que, dans notre laboratoire, un examen systématique d'Holarrhena d'origines diverses, asiatiques ou africaines, a permis de montrer qu'il existe parfois d'importantes différences dans la constitution chimique de plantes classées par les botanistes sous la même dénomination. Il a été possible de rétablir comme entité définie deux Holarrhena asiatiques, Holarrhena crassifolia et Holarrhena curtisii (4, 5), qui avaient été confondus par le botaniste LECOMTE (6) en la seule espèce H. curtisii.

Alors que l'Holarrhena crassifolia authentique ne renferme, dans ses feuilles, que des amino-stéroïdes classiques, en particulier du type de la conkurchine (7), l'étude des feuilles de H. curtisii,

d'origine malaise a conduit à la découverte d'un nouveau groupe d'alcaloïdes, les amino-glyco-stéroïdes, holacurtine et holacurténine (8). Cette découverte a été suivie peu après de celle d'un amino-glyco-stéroïde, la mitiphylline (9) à partir de l'H. mitis R. Br.

L'isolement de nouveaux amino-sucres signalés pour la première fois dans le règne végétal revêt une grande importance, ces hydrates de carbone faisant partie de nouveaux antibiotiques et, surtout, depuis que l'on a signalé les propriétés antitumorales de la daunomycine, comportant, dans sa structure, la daunosamine qui est un amino-3 tridésoxy-2,3,6 L -lyxohexose (10). Cette importance s'accroît du fait que les amino-sucres sont liés à des stéroïdes et constituent un type tout-à-fait nouveau de substances naturelles.

Dans le cadre de ces recherches, Messieurs M. -M. JANOT et R. GOUTAREL ont bien voulu me confier, sous la direction de M. Q. KHUONG-HUU, l'étude des feuilles de l'Holarrhena antidysenterica Wall. , d'origine indienne.

Une étude chimique de cette espèce avait conduit P. LONGEVIALLE à l'isolement de quatre alcaloïdes nouveaux : kurchiline, kurchiphylline, kurchiphyllamine et kurchaline (11). Une partie importante des alcaloïdes résiduels n'avait pas été examinée et c'est cette étude qui m'a été confiée.

GENERALITES SUR LES APOCYNACEES (1)

La nomenclature botanique a été empruntée, pour une grande part, à la monographie de BISSET (2), elle-même dérivée des nouvelles bases de classification établies par PICHON (3). La famille des Apocynacées est aujourd'hui subdivisée en trois sous-familles :

CERBEROÏDEES

ECHITOÏDEES

PLUMIEROÏDEES

On relève, dans les deux sous-familles, les genres suivants dans lesquels ont été caractérisés des alcaloïdes stéroïdiques :

ECHITOÏDEES

Chonemorpha G. D.Funtumia StapfKibatalia G. DONWrightia R. Br.Walidda (A. DC.) Rich.Malouetia A. DC.Elytropus M. -Arg.

PLUMIEROÏDEES

Tabernaemontana L.Holarrhena R. Br.Dictyophleba lucida K. Sch.

Le genre Holarrhena R. Br. (7 à 8 espèces) est classé parmi les Plumieroïdées et divisé en deux sections :

EUHOLARRHENA A. DCALEPIS A. DC.

L'Holarrhena antidysenterica L. Wall. , très riche en alcaloïdes, fait partie de la première section.

GENERALITES SUR LE GENRE HOLARRHENA (1)

RAPPEL HISTORIQUE

Aux Indes, l'écorce (Kurchi) et les graines (graines d'Anderjow) sont signalées pour leurs propriétés antidysentériques.

En Afrique, l'Holarrhena floribunda ou africana, appelé "SEOULOU" par les indigènes, sert à la préparation de remèdes magiques ; il aurait des propriétés diurétiques et antiblennorrhagiques. D'après Cl. LAFFITE, il serait identique au "KUMBAZO" signalé fébrifuge par LIVINGSTONE. Il semble, cependant, que le nom de "quinquina" africain doit être réservé à l'Holarrhena febrifuga, espèce particulière à l'Afrique équatoriale et orientale. Selon la partie de l'arbre utilisée, l'on possède un remède, soit contre la syphilis (racines, écorces), soit contre la diarrhée infantile, les douleurs de l'enfantement (feuilles), les helminthes (graines).

RAPPEL CHIMIQUE

Les écorces de tronc et les graines de l'Holarrhena antidysenterica ont été étudiées par différents chercheurs : HAINES (12), SIDDIQUI (13), A. BERTHO (14), R.D. HAWORTH (15), R. TSCHESCHE (16), F. SORMA coll. (17). Quant aux feuilles de cette espèce, elles n'avaient fait

l'objet d'aucune étude chimique avant que P. LONGEVIALLE (11) ne s'y intéresse ; ses travaux n'ayant porté que sur la fraction des alcaloïdes totaux solubles dans l'éther de pétrole, il restait une quantité importante de base provenant de cet Holarrhena indien, et c'est cette matière première qui constitue l'objet de ce travail.

EXTRACTION ET ISOLEMENT DES ALCALOÏDES

I OBTENTION DES BASES BRUTES

Les feuilles séchées et finement broyées sont dégraissées à l'éther. Les alcaloïdes sont ensuite déplacés de leurs combinaisons naturelles par alcalinisation au carbonate de sodium à 10%, extraits au Soxhlet par du chlorure de méthylène et les extraits sont concentrés au maximum. Le résidu obtenu est repris par de l'éther et extrait par une solution aqueuse d'acide amido-sulfonique à 10%. Les sulfamates d'alcaloïdes formés -hydrosolubles- sont alcalinisés par de la soude. Les bases libérées sont extraites par du chlorure de méthylène, lequel est lavé à l'eau puis séché sur sulfate de sodium. Par évaporation sous pression réduite, les bases brutes obtenues sont sous forme d'une laque vert-brun. Le rendement est de l'ordre de 1%.

Les tests préliminaires effectués sur ces bases et les renseignements qui en découlent sont les suivants :

I. R. : aucune absorption de bandes ester ni d'amide.

La chromatographie en couche mince met en évidence la richesse de la plante en produits, ceux-ci de polarités très voisines.

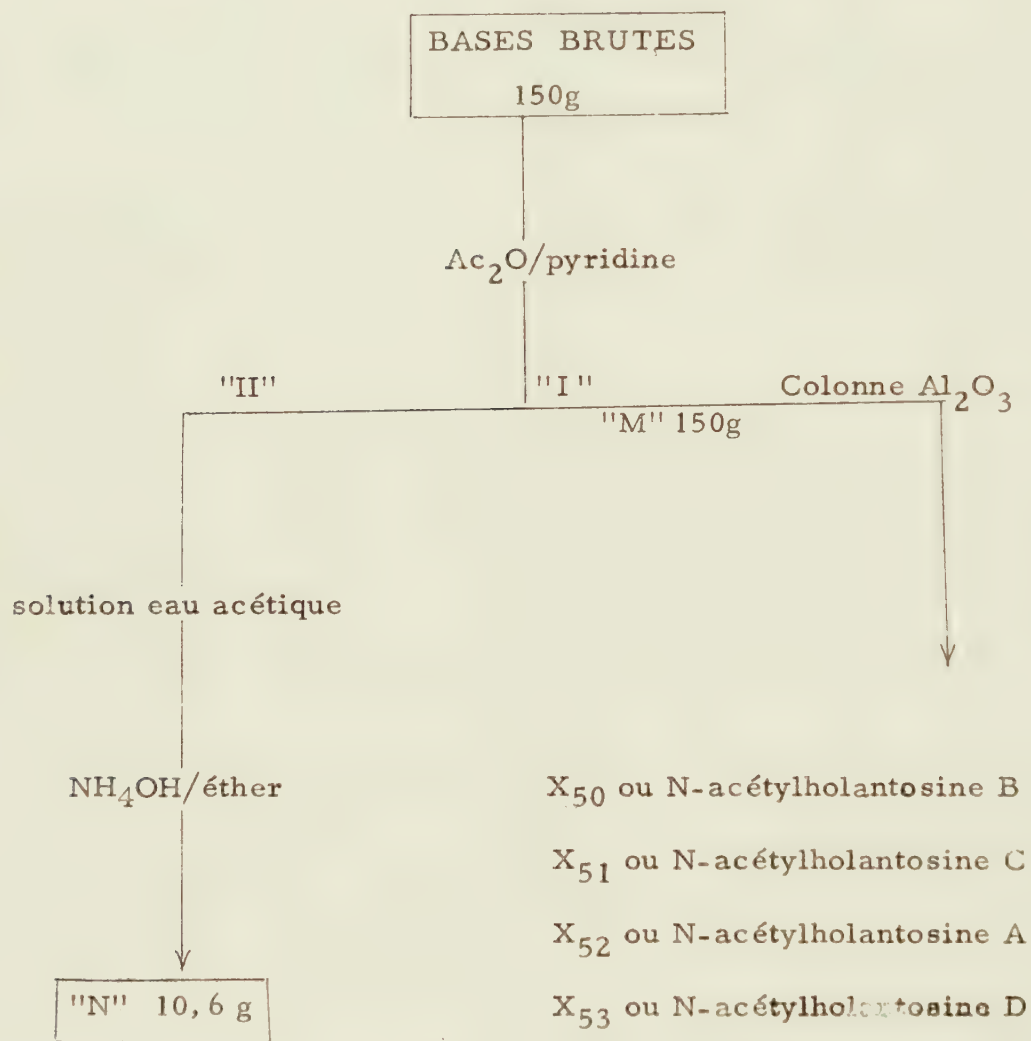
R. M. N. : Le fait que le spectre de R. M. N. comporte un groupement méthoxy permet de présumer la présence de glycoside.

II ISOLEMENT DES ALCALOIDES (selon la technique mise au point par KHUONG-HUU et coll. (19))

Deux méthodes différentes ont été utilisées dont les résultats sont consignés dans la partie expérimentale et résumés dans les schémas I et II.

1) - Dans une première méthode (schéma I), les bases B, après purification par contre-courant (18) ont été acétylées (anhydride acétique et pyridine anhydres) à 80°. Le produit d'acétylation a donné une fraction basique et une fraction neutre. Le produit principal, isolé de cette fraction neutre a été appelé l'O-acétyl-anhydroholantogénine.

2) - Dans une seconde opération (schéma II), les bases brutes totales ont été acétylées dans des conditions plus douces (anhydride acétique et pyridine anhydres) à la température du laboratoire. On a obtenu d'une part des produits basiques et d'autre part des produits neutres : c'est la chromatographie de ces produits neutres qui nous a conduits à l'isolement de nouveaux amino-glyco-stéroïdes qui font l'objet de ce travail.

2) - ISOLEMENT SELON LE SCHEMA II

ETUDE DES ALCALOÏDES ISOLÉS

En plus des nouveaux amino-glyco-stéroïdes et des génines qui leur correspondent, les deux techniques d'extraction décrites dans la partie expérimentale nous ont permis d'isoler de nouveaux stéroïdes aminés, alcaloïdes voisins de ceux décrits par P. LONGEVIALLE (11):

la kurchalimine

la kurcholine

la kurchalinine

Ces alcaloïdes seront brièvement décrits.

La détermination des structures des nouveaux amino-glyco-stéroïdes :

l'holantosine A

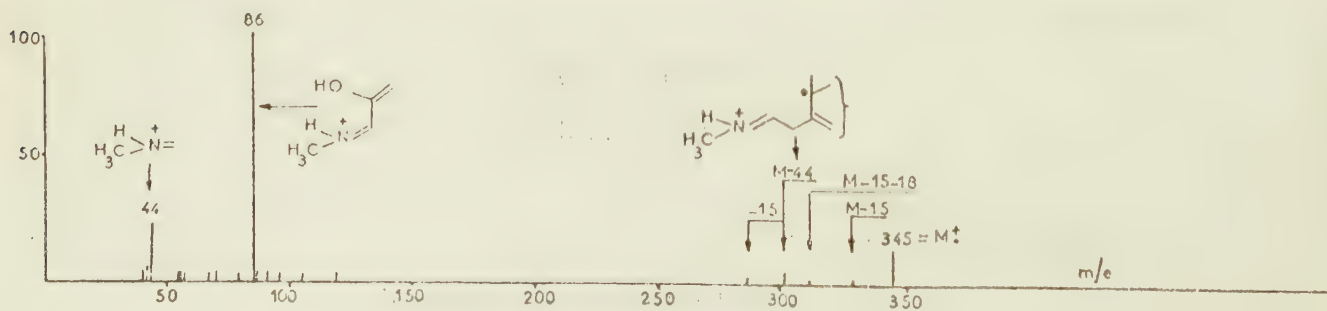
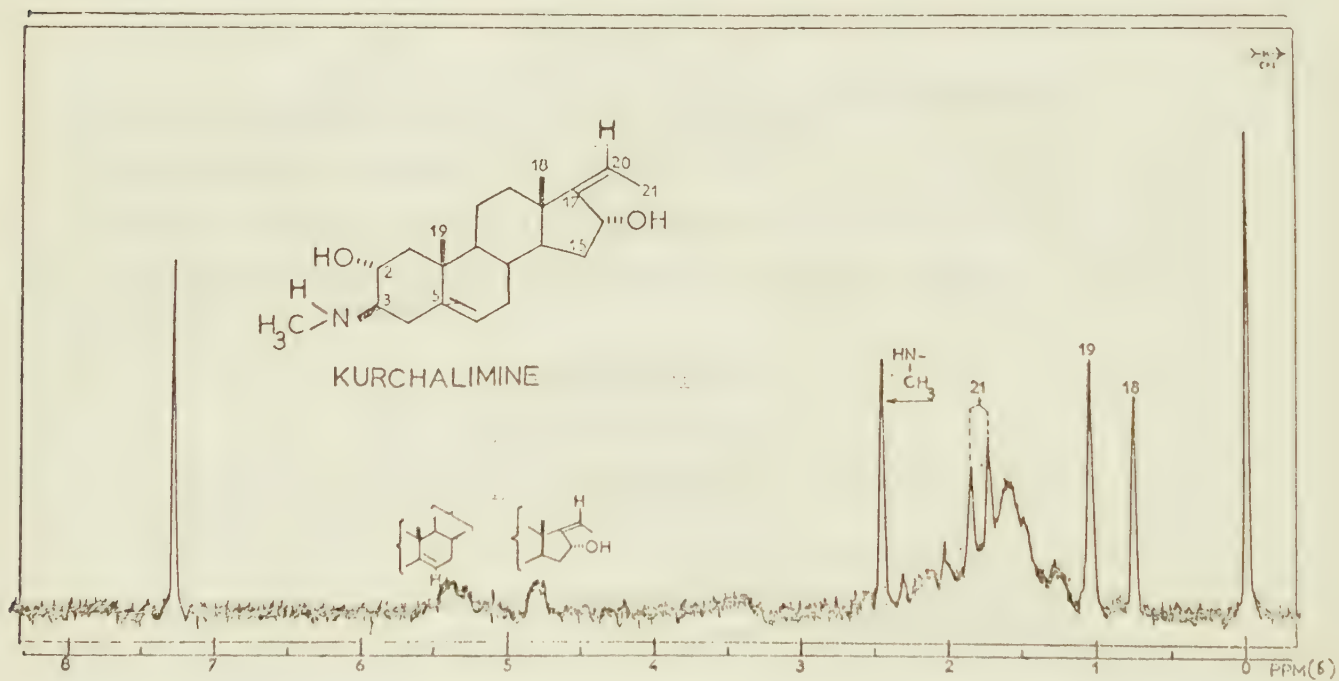
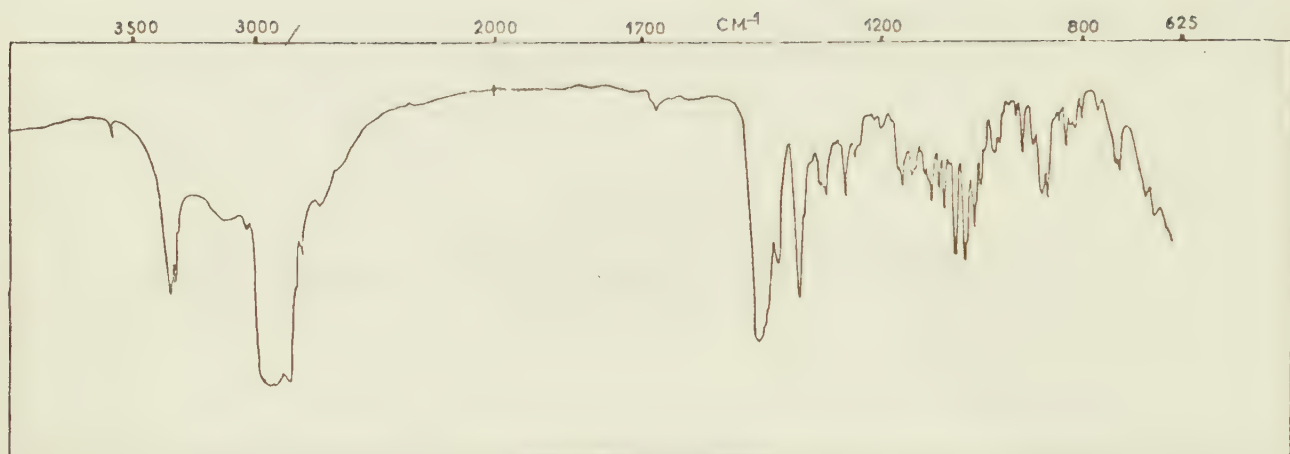
l'holantosine B

des nouvelles génines :

l'anhydro-holantogénine

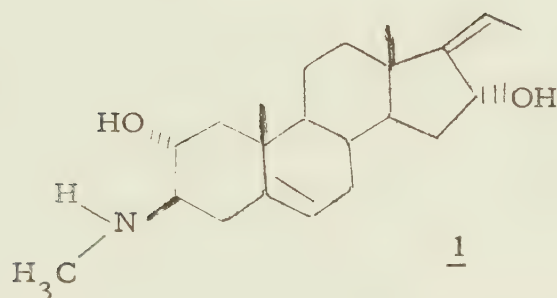
l'holantogénine

fait l'objet principal de cette thèse.



I AMINO-STEROIDES

1) - KURCHALIMINE -



$$C_{22}H_{35}O_2N = 345,51$$

$$F = 258^\circ$$

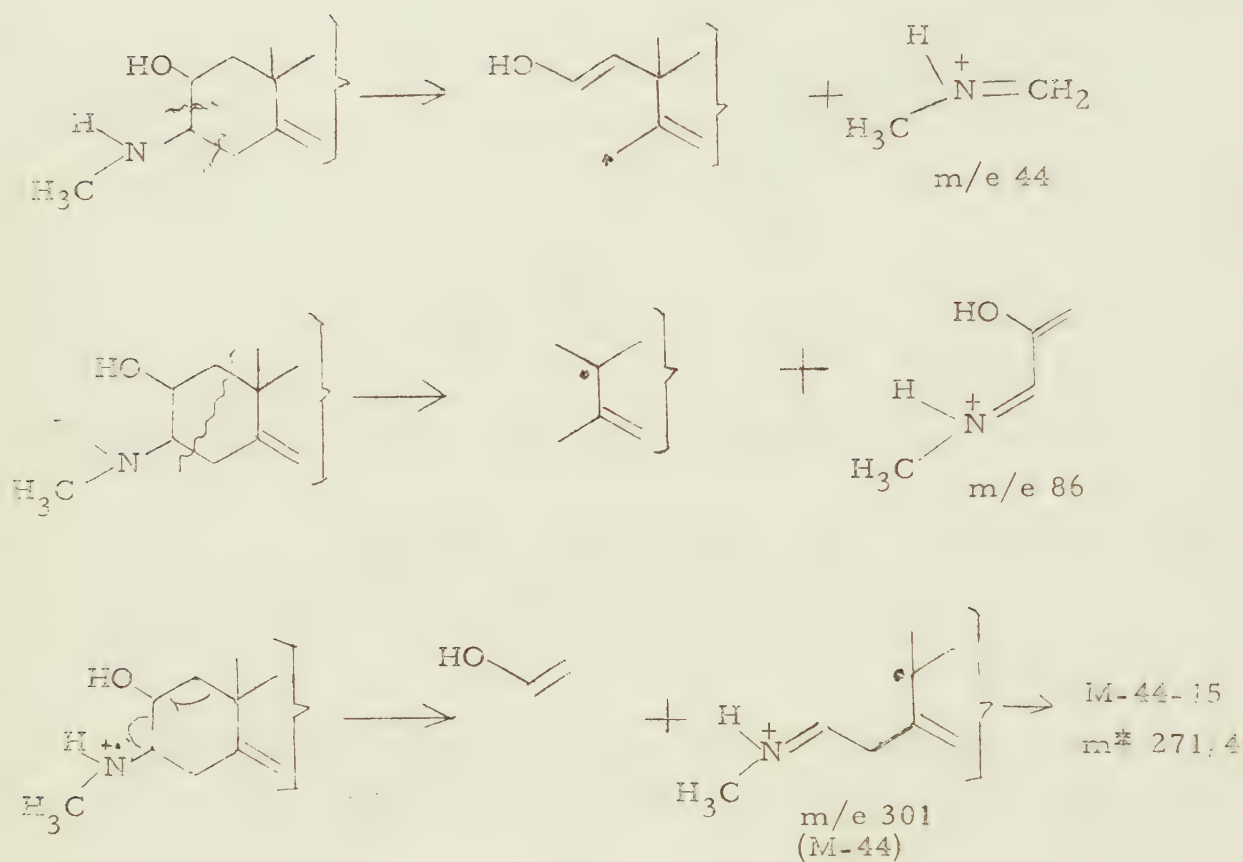
$$[\alpha]_D - 94^\circ \text{ (pyridine, } c = 0,5)$$

La kurchalimine, 1, de caractère plus polaire que la kurchaline (11), est quasiment insoluble dans les solvants usuels, après recristallisation dans le méthanol.

Isolée par chromatographie (alumine hydratée à 6% d'eau) des bases brutes après contre-courant et avant acétylation (schéma I), elle présente les données spectrales suivantes :

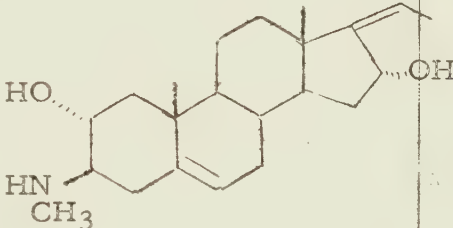
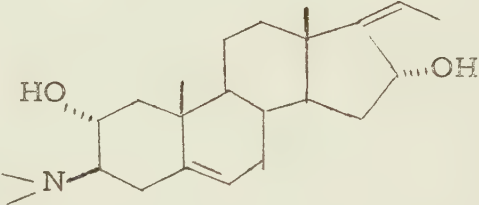
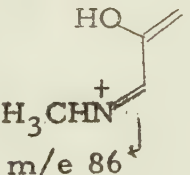
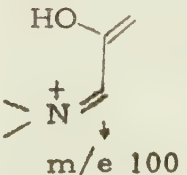
Spectre I. R. : il comporte des vibrations -NH, -OH à 3310 et 3320cm^{-1} .

Spectre de masse : il confirme la formule brute par la présence de l'ion moléculaire à m/e 345. On note également la présence des ions caractéristiques des hydroxy-2 méthylamino-3 prégnène-5 (20).

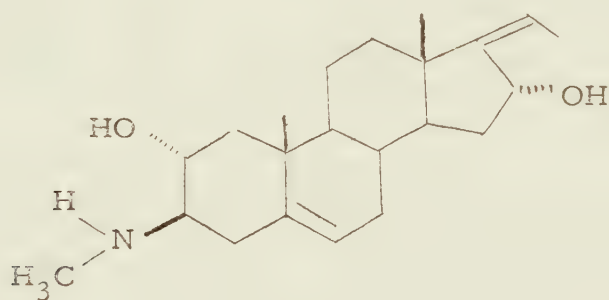


Spectre de R. M. N. : il présente les signaux suivants : deux singulets de méthyles tertiaires, CH_3 -18 et CH_3 -19, respectivement situés à δ 0,75 et 1,03. Un doublet de méthyle secondaire, CH_3 -21, situé à δ 1,78. Deux protons oléfiniques, massif centré à δ 5,30. Le proton en 16, au pied de l'alcool secondaire, apparaît sous forme de multiplet centré à δ 4,82 ; celui en 3, au pied de l'amine secondaire, apparaît sous forme de multiplet élargi vers δ 3,50, l'allure de ce dernier indique la position 3β du groupement NHCH_3 , qui apparaît à δ 2,46.

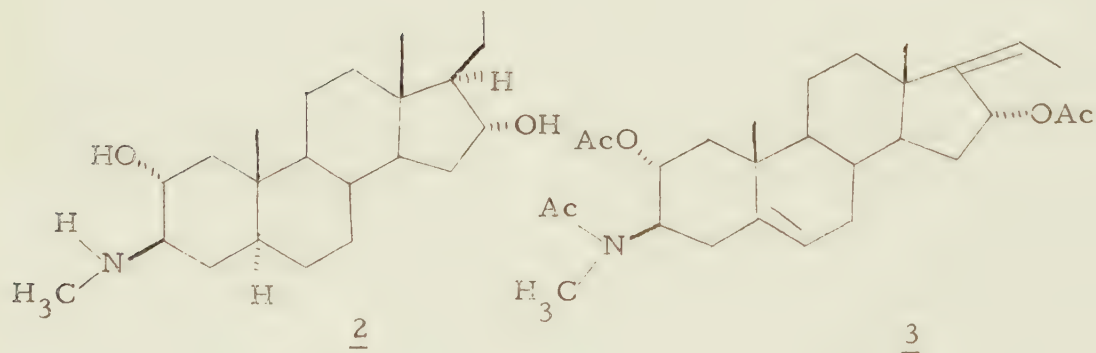
Les spectres de R. M. N. de la kurchaline (11) et de la kurchalimine, 1, sont très analogues ; toutefois, on observe, dans le cas de cette dernière, le déplacement habituel assez important du groupe NCH_3 vers les champs faibles, par rapport au groupe $\text{N}(\text{CH}_3)_2$. Dans les deux spectres de masse, on note les ions caractéristiques vus ci-dessus.

	Kurchalimine, <u>1</u>	Kurchaline (11)
R. M. N.		
NHCH_3	singulet à δ 2,46	singulet à δ 2,30
CH_3 -18	singulet à δ 0,75	singulet à δ 0,76
CH_3 -19	singulet à δ 1,03	singulet à δ 1,03
CH_3 -21	doublet à δ 1,86 et 1,75	doublet à δ 1,86 et 1,75
H-6 + H-20	multiplet centré à δ 5,30	multiplet centré à δ 5,30
H-16	multiplet centré à δ 4,82	multiplet centré à δ 4,82
H-3	multiplet vers δ 3,50	multiplet vers δ 3,50
Masse		

En ce qui concerne l'isomérisie cis ou trans du méthyle 21, le déplacement chimique du proton en 20 (δ 5,30) est en accord avec la stéréochimie trans. On sait que ce proton se situe à δ 5,57 dans le cas de l'isomérisie cis (21). Le déplacement chimique du méthyle 18 donne la position de l'hydroxyle en 16, celui-ci est α quand le CH_3 -18 est situé à δ 0,76, comme c'est le cas ici ; il est β quand le CH_3 -18 est situé à δ 0,93 (22).

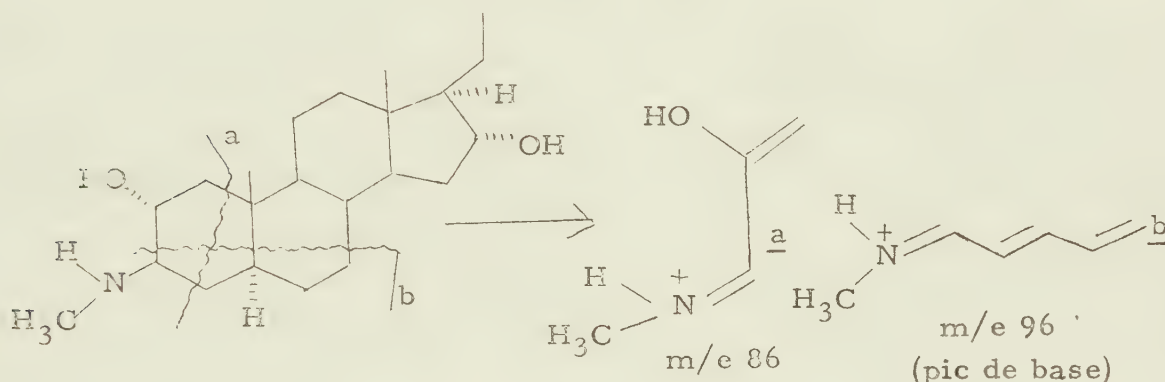


Kurchalimine, 1



L'hydrogénation catalytique (platine d'Adams) de la kurchalimine, 1, conduit à la tétrahydrokurchalimine, 2.

Spectre de masse de 2 : il confirme la formule brute par la présence du pic moléculaire à m/e 349. La rupture classique, initiale de la liaison 2-3 entraînant la fragmentation du type b est observée de façon très intense. Bien qu'également présente, celle de type a est de faible intensité (11, 20).

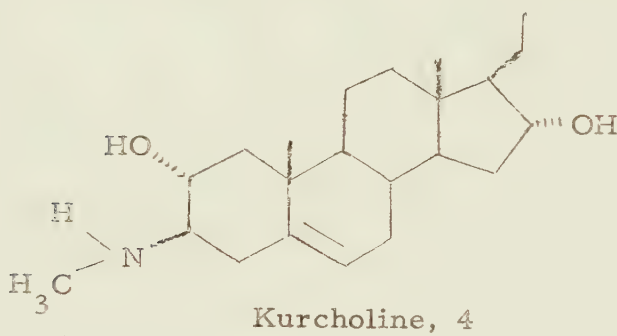


Spectre de R. M. N. de 2 : On note, dans ce spectre, les signaux correspondants à : deux singulets de méthyles tertiaires, CH₃-18 et CH₃-19, respectivement signalés à δ 0,58 et δ 0,81. Le CH₃-21, par sa disparition dans la zone des CH₂, confirme une fois de plus l'insaturation 17(20) préexistante. Le groupement NCH₃ se trouve légèrement déplacé vers les champs faibles, il apparaît sous forme de singulet à δ 2,43 (ce déplacement est dû à l'hydrogénation de la double liaison initiale 5,6). Un signal -singulet large- situé à δ 1,90, disparaît à la deutériation (3 protons) ; il peut être la somme des deux OH et du NH

L'hydrogénation de la double liaison 5,6 de la kurchalimine, 1, déplace son CH₃-19 de δ 0,22 vers les champs forts, ce déplacement (δ 1,03 pour 1 moins δ 0,81 pour 2, égale δ 0,22) correspond à celui observé lors de la réduction d'un Δ_5 stéroïde en stéroïde A/B trans, 5 α (23).

En conclusion, la kurchalimine, 1, doit être un dihydroxy-2 α , 16 α méthylamino-3 β prénadiène-5, 17(20) trans et la tétrahydrokurchalimine, 2, le dihydroxy-2 α , 16 α méthylamino-3 β prénane-5 α . Ce dernier est identique à la dihydrokurcholine, 7, décrite ultérieurement.

2) - KURCHOLINE -



$$C_{22}H_{37}O_2N = 347,52$$

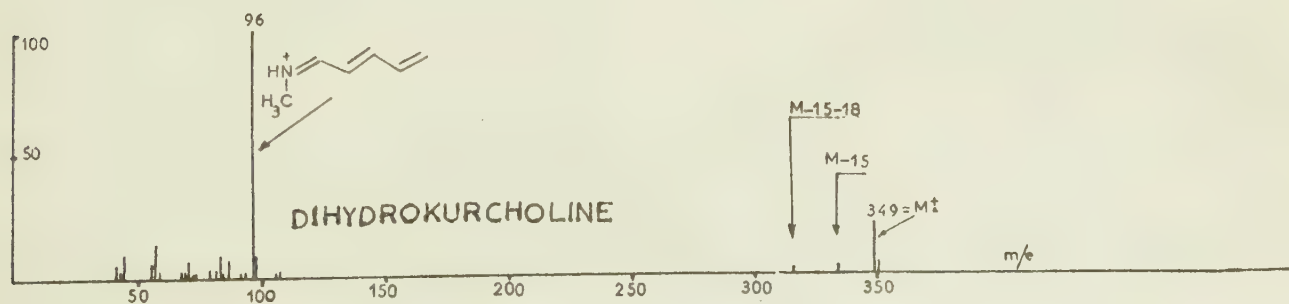
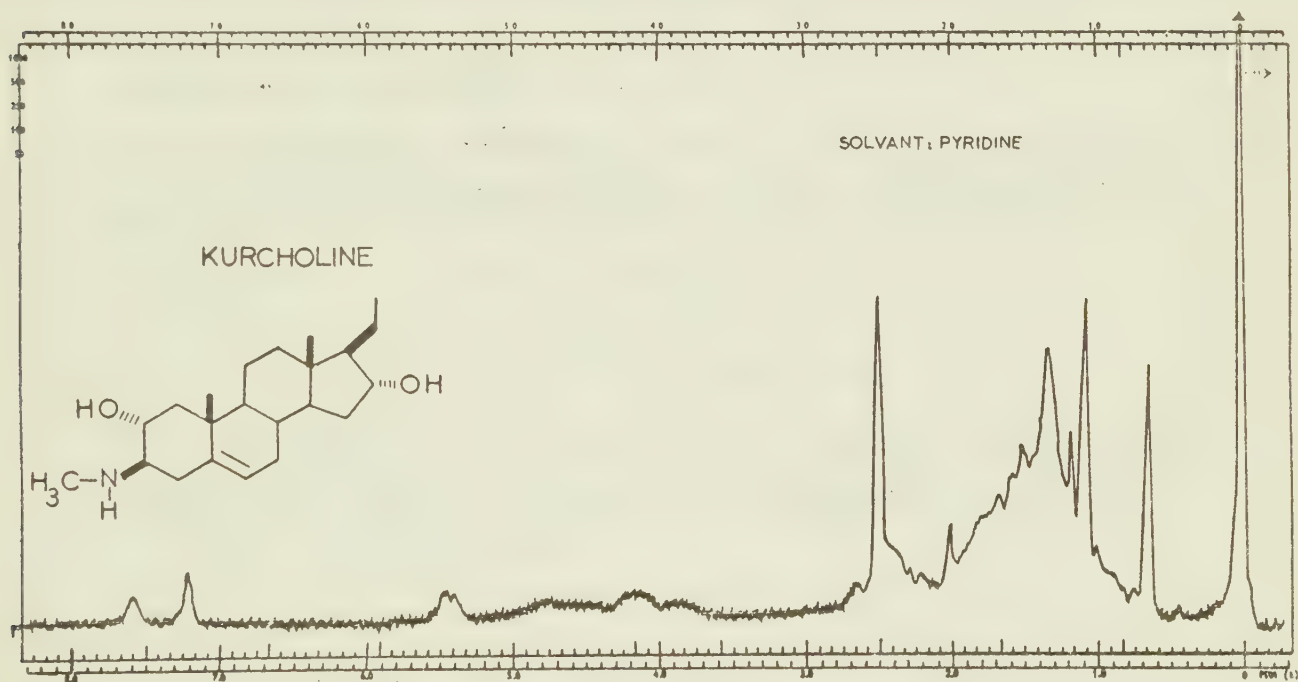
$$F = 221^\circ$$

$$[\alpha]_D - 97^\circ \text{ (MeOH, } c = 1)$$

Cet alcaloïde est isolé sous forme de dérivé O, O', N-triacétylés, 5, (schéma I), qui présente, dans son spectre I. R., les bandes d'absorption d'un ester acétique et d'un amide tertiaire.

La kurcholine, 4, est obtenue par saponification de ce dérivé triacétylé en tube scellé à la température de 170° ; cristallisé dans le méthanol, elle présente les données spectrales suivantes :

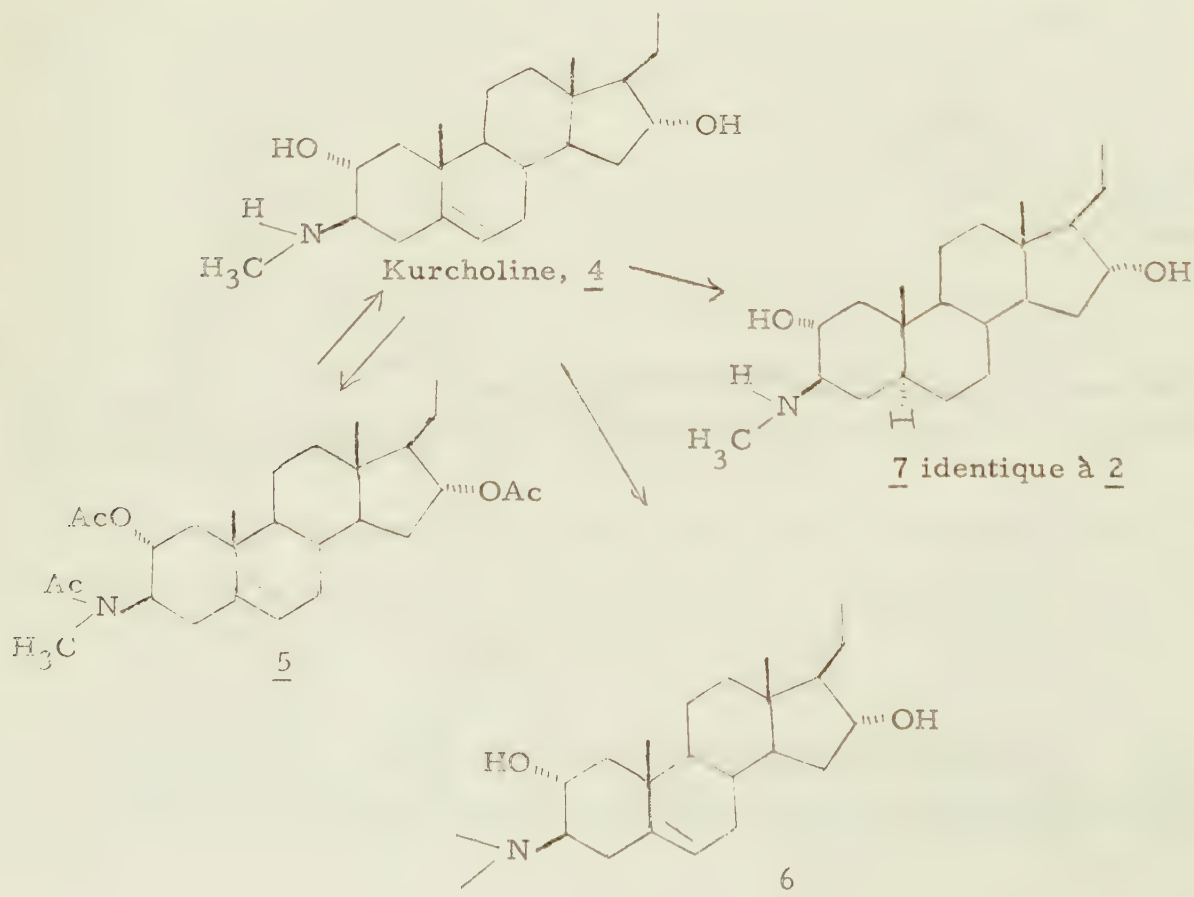
Spectre I. R. : Absence de bandes ester et amide confirmant la saponification totale, présence de vibrations OH vers 3300 et 3310cm⁻¹.



Spectre de masse : Il est en accord avec la formule brute par la présence de l'ion moléculaire m/e 347. Sont présents les ions m/e 44, m/e 86, pics à $M-44$, $M-44-15$ (cf. kurchalimine, 1).

Spectre de R. M. N. : On relève, dans ce spectre, les signaux suivants : singulets à δ 0,64 et 1,06 pour les méthyles 18 et 19. Singulet du groupement NCH_3 à δ 2,48. Le proton oléfinique apparaît sous forme de multiplet entre δ 5,40 et 5,50. L'aspect du proton en 3 (multiplet élargi) indique la position 3β du groupement méthylamino.

La structure de la kurcholine, 4, est démontrée par une série de réactions : acétylation pyridinée, méthylation, hydrogénation catalytique et oxydation chromique (réactif sulfochromique de Jones) :

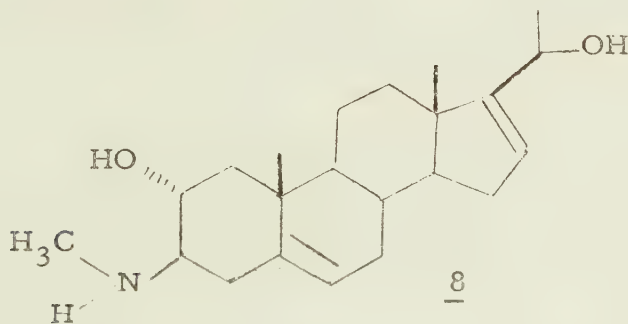


L'oxydation chromique (24) de la kurcholine, 4, donne un mélange de trois produits dont l'un est majoritaire. Bien que la séparation de ces trois produits n'ait pu être réalisée en raison de la petite quantité de matière première, le spectre I. R. de ce mélange est caractérisé par la présence de deux bandes carbonyles correspondant l'une à une cyclohexanone (1715cm^{-1}) et l'autre à une cyclopentanone (1740cm^{-1}). Cette dernière indique la position d'une des fonctions alcools secondaires sur le cycle D du stéroïde. Cette position en 16 est confirmée par hydrogénation (platine d'Adams) qui conduit au dérivé 7 identique à la tétrahydrokurchalimine, 2.

La méthylation de la kurcholine, 4, par la méthode à l'acide formique/formaldéhyde (25), conduit au diméthylamino-3 β méthyl-2 α ,16 α prégnène-5, 6, dont la structure est confirmée par spectrométrie de masse et de R. M. N.

L'ensemble de ces résultats permet d'attribuer à la kurcholine, 4, la structure du dihydroxy-2 α ,16 α méthylamino-3 β prégnène-5.

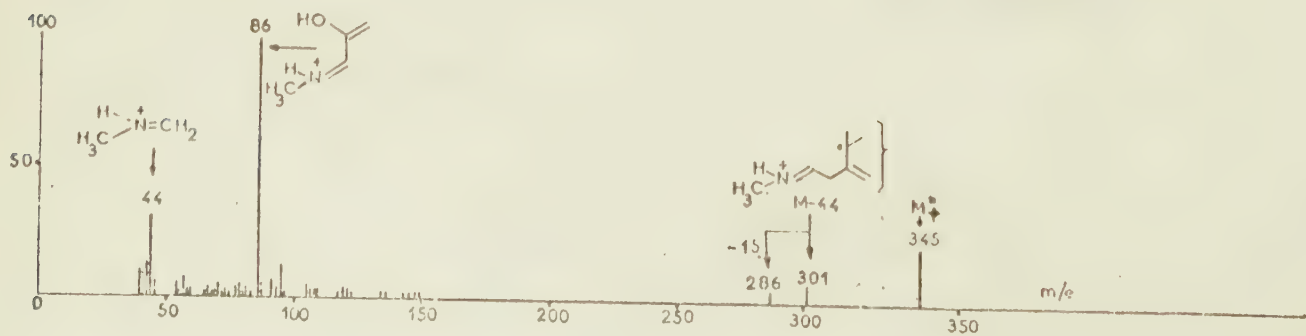
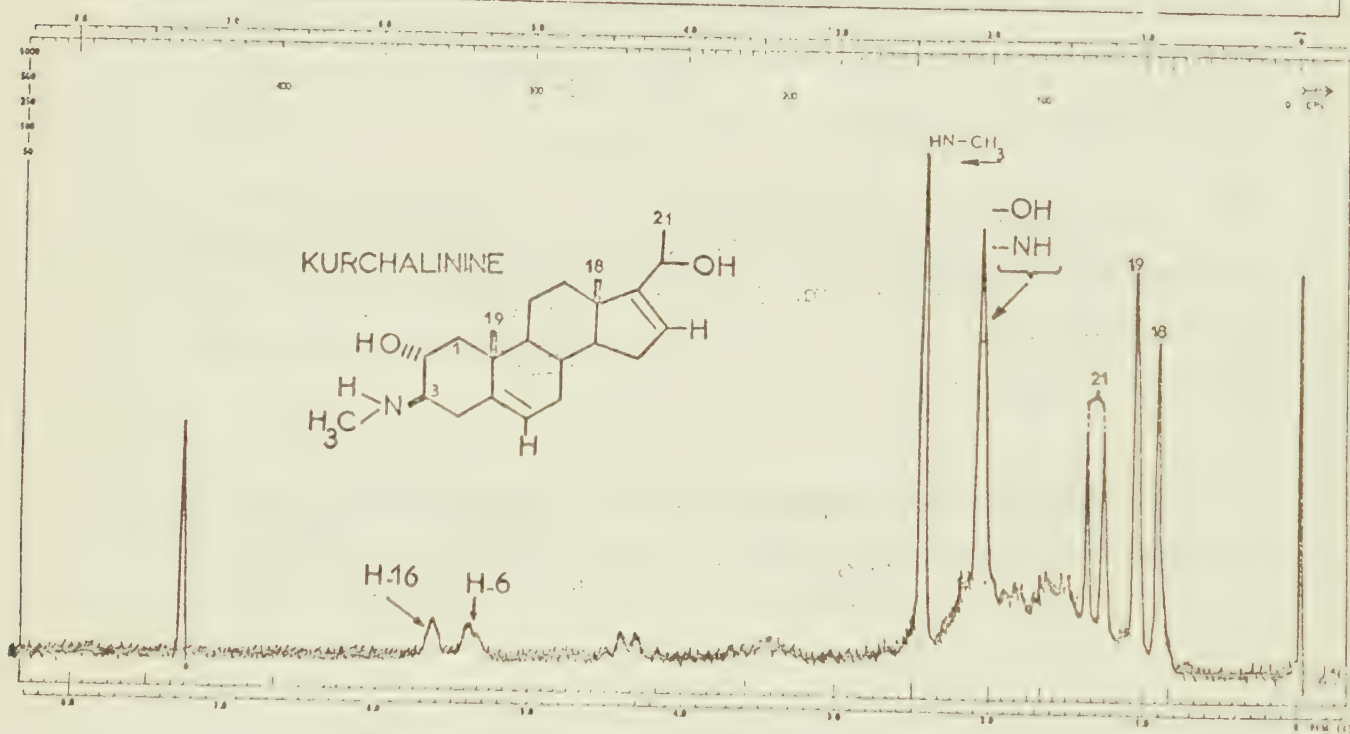
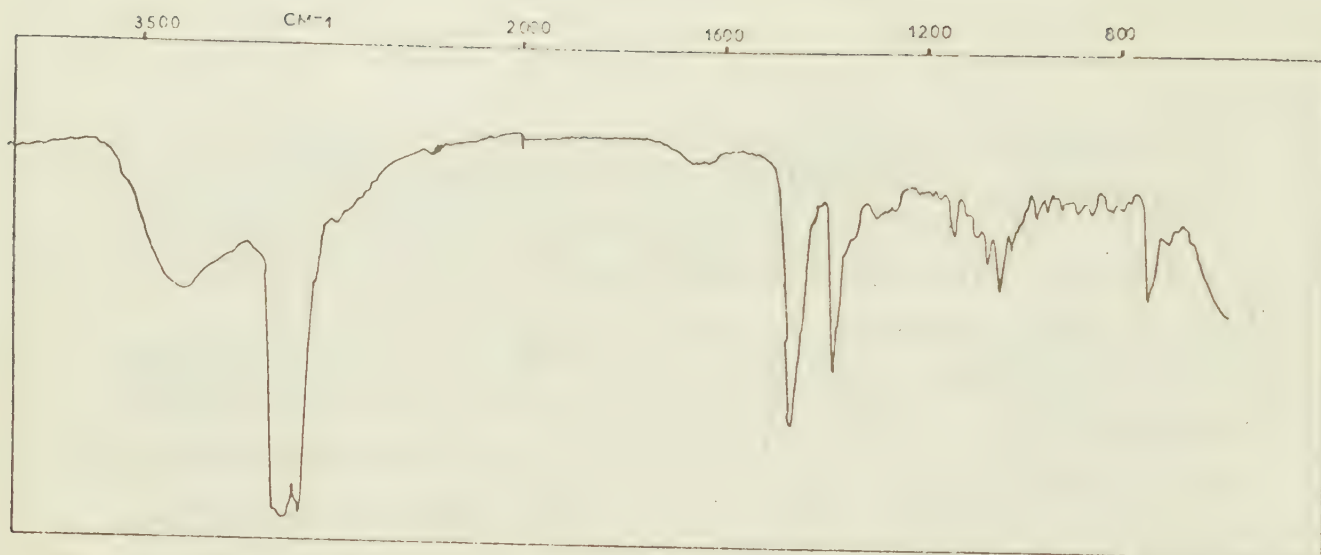
3) - KURCHALININE -



$$\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{O}_2\text{N} = 345,51$$

$$F = 179^\circ$$

$$[\alpha]_D - 63^\circ (\text{CHCl}_3, \\ c = 1,07)$$



La kurchalinine, de caractère très polaire, a pu être isolée par chromatographie des fractions neutres, "F", après acétylation pyridinée (voir le schéma I) sous forme de dérivé O,O',N-triacétylés. Régénérée par saponification en tube scellé à la température de 170°, la kurchalimine base, 8, est obtenue cristallisée dans le méthanol et présente les données spectrales suivantes :

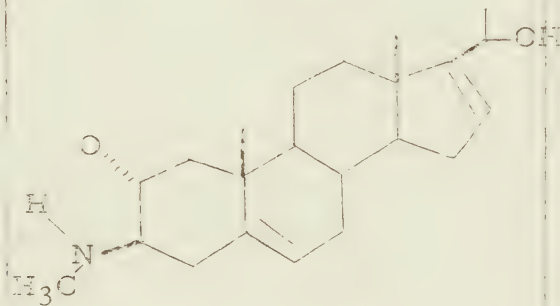
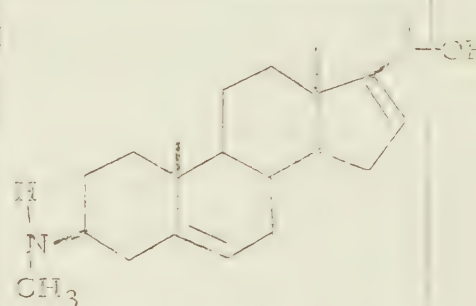
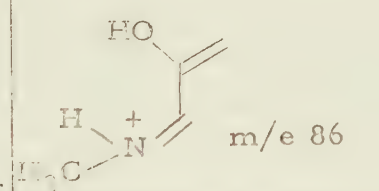
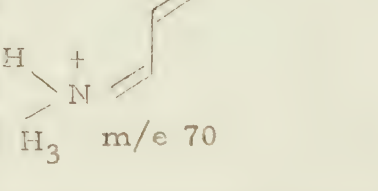
Spectre I. R. : Il comporte une bande d'absorption NH vers 3320cm^{-1} . L'absence de vibrations ester et d'amide confirme la saponification totale.

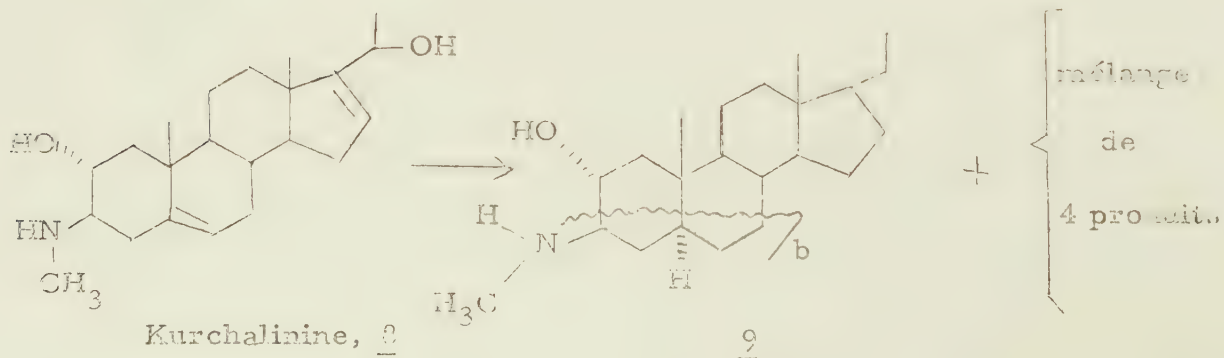
Spectre de masse : Il est en accord avec la formule brute proposée : $M^+ = 345$. Pics à m/e 44, m/e 86 (pic de base), m/e 286 (M-44-15), m/e 301 (M-44).

Spectre de R. M. N. : Il apporte des éléments en faveur d'une hypothèse de structure, celle d'un prégnadiène substitué comportant éventuellement un groupement méthylamino-3 β : l'aspect du proton en 3 (multiplet élargi) est celui d'un hydrogène axial. On note trois singulets à δ 0,92, 1,03 et 2,45 correspondants aux : CH_3 -18, CH_3 -19 et NCH_3 et un doublet de méthyle secondaire (CH_3 -21 à δ 1,33 ; $J = 6,5$ Hz). Le signal -singulet large- comportant 3 protons et disparaissant à la deutériation peut être la somme des deux OH et du NH. Les protons en 6 et en 16 apparaissent sous forme de multiplets entre δ 5,30 et 5,50.

Les données spectrales de R. M. N. et de masse de la kurchalinine, 8, et de l'holadysamine (11) sont qualitativement comparables. Ces résultats sont consignés dans le tableau I.

TABLEAU I

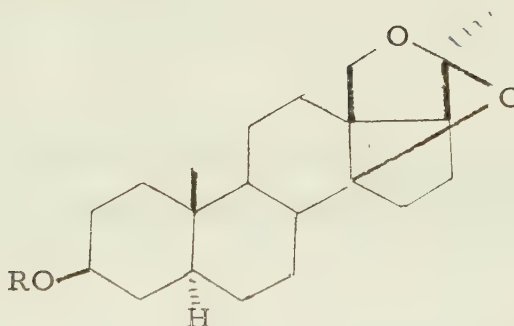
	Kurchalinine, <u>8</u>		Holadysamine (11)	
R. M. N.				
CH ₃ -18	<u>s</u>	δ 0,92	<u>s</u>	δ 0,92
CH ₃ -19	<u>s</u>	δ 1,06	<u>s</u>	δ 1,05
CH ₃ -21	<u>d</u>	δ 1,33	<u>d</u>	δ 1,32
N-CH ₃	<u>s</u>	δ 2,45	<u>s</u>	δ 2,35
H-6	<u>m</u>	δ 5,30-5,5	<u>m</u>	δ 5,35
H-16	<u>m</u>	δ 5,60-5,75	<u>m</u>	δ 5,66
Masse				



L'hydrogénation catalytique (AcOH, C/Pd) conduit, comme dans le cas de l'holadysamine (11), à un mélange de produits. Ce mélange, traité en C. C. M. préparative, fournit une faible quantité du dérivé 9, qui présente, à la spectrométrie de masse, un pic de base à m/e 96, type b (voir la tétrahydrokurchalimine, 2).

II GENINES

1) - Anhydro-holantogénine -

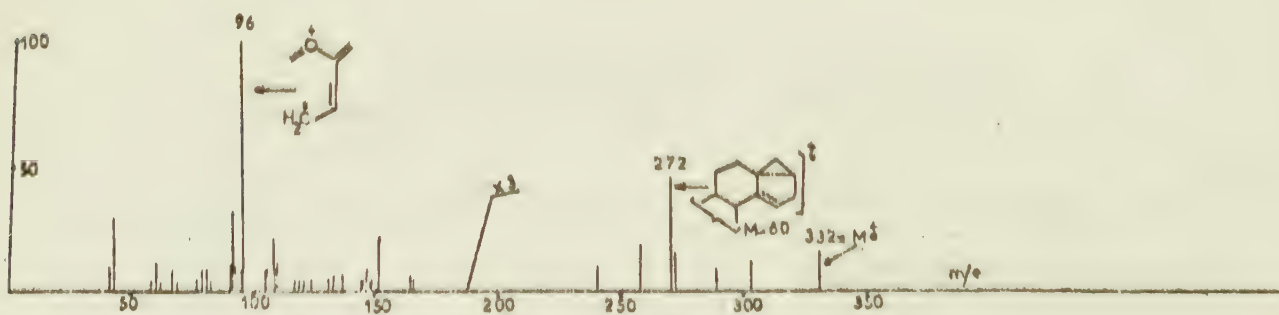
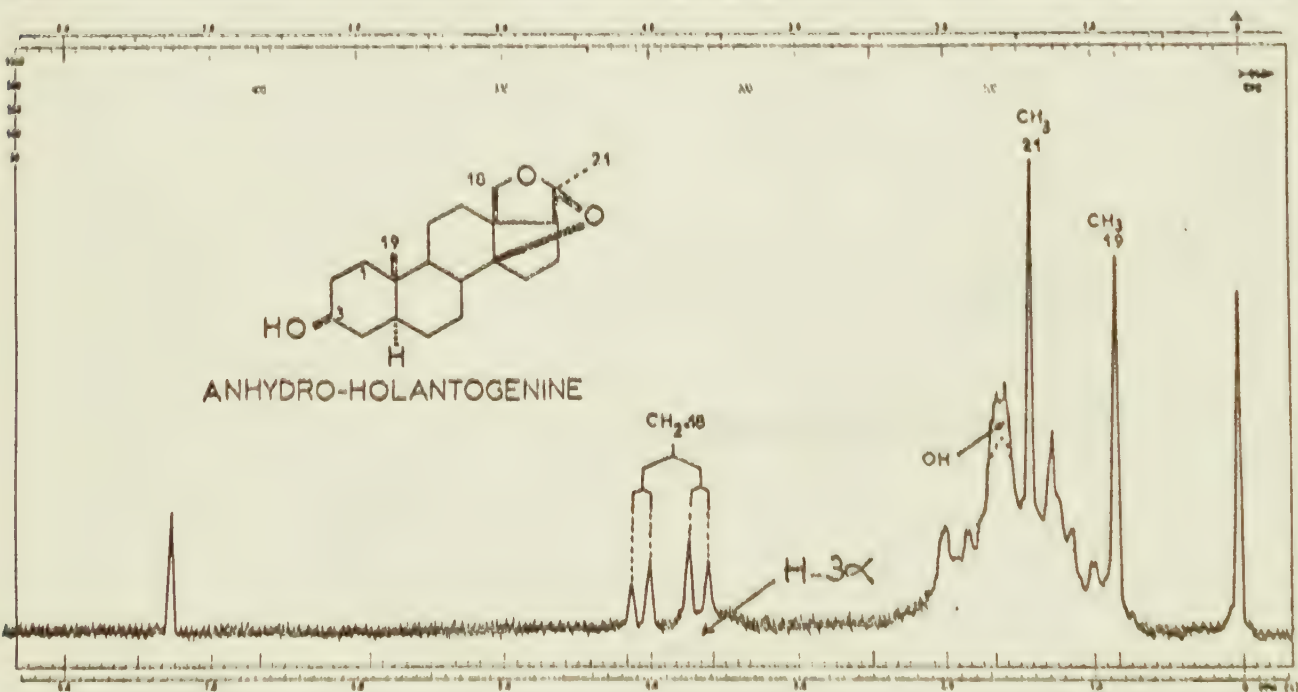
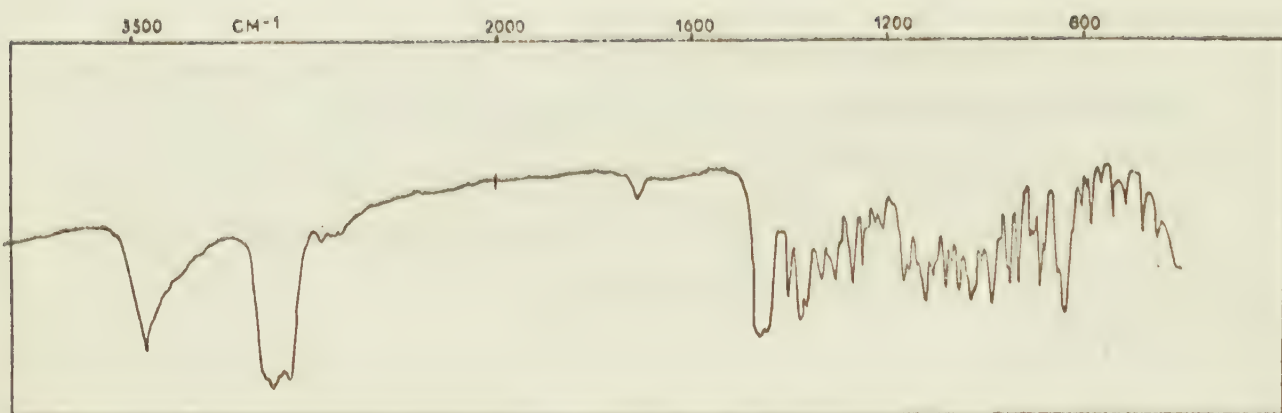


10 R = H ; Anhydroholantogénine

11 R = Ac ; O-acétyl-anhydroholantogénine

10 $C_{21}H_{32}O_3 = 332,47$ $F = 179^\circ$ $[\alpha]_D = 38^\circ$ $M[D] = 126^\circ$

11 $C_{23}H_{34}O_4 = 374,50$ $F = 152^\circ$ $[\alpha]_D = 44^\circ$ $[M]_D = 154^\circ$

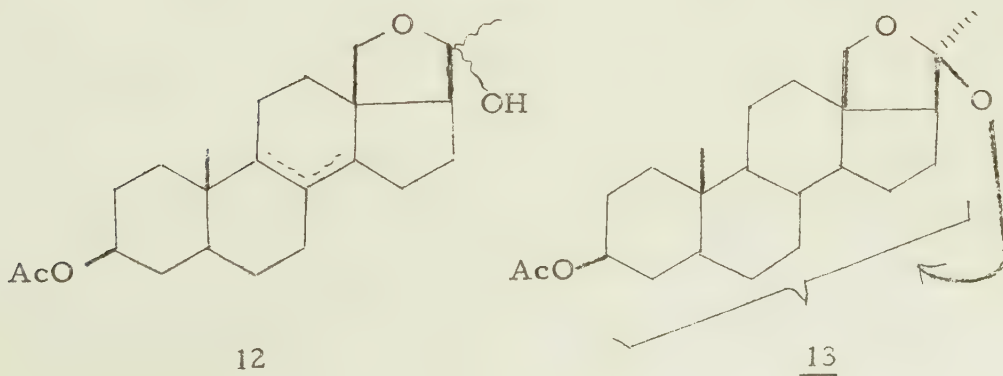


L'O-acétyl-anhydroholantogénine, 11, est obtenue par chromatographie des fractions neutres "C", après acétylation pyridinée des bases brutes (schéma I). Obtenue cristallisée dans l'acétone/hexane, elle présente les données spectrales suivantes :

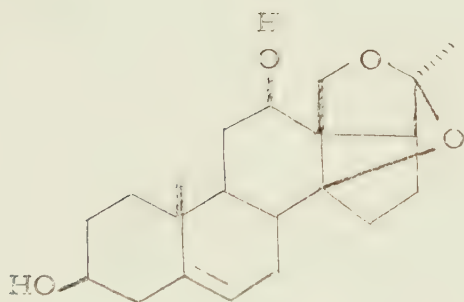
Spectre I. R. : Il comporte les bandes d'absorption d'un ester à 1735, 1250 et 1025 cm^{-1} .

Spectre de R. M. N. : On observe trois singulets de méthyles : OAc, méthyles 19 et 21 respectivement à δ 2,00, 0,82 et 1,40. Un système AB ($J = 8\text{Hz}$), dont la partie A est centrée à δ 3,66 et la partie B à δ 4,05 peut être attribué en fonction de son déplacement vers les champs faibles à un méthylène en 18, sur un stéroïde du type hydroxy-18 pré-gnane-5 α one-20, sous forme hémicétalique (18 $\rightarrow$ 20). Le proton sur le carbone porteur de la fonction ester acétique apparaît sous la forme d'un multiplet large entre δ 4,40 et 4,90, un tel couplage peut être celui d'un proton axial en 3 ; le groupement ester serait donc 3 β .

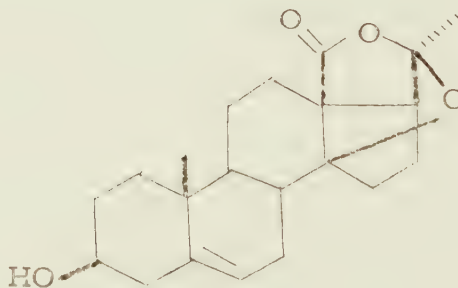
A ce stade, on peut avancer deux hypothèses de structure : 12 ou 13.



Les deux atomes d'oxygène autres que ceux du groupe OAc (dans le cas de 11), d'après le spectre de R.M.N. , correspondent à une fonction hémicétalique du type hydroxy-18 tel que 12, ceci est exclu par l'absence de vibration OH dans le spectre I.R. de 11. D'autre part, d'après la formule brute, un tel système hémicétalique devrait correspondre à un dérivé possédant une double liaison tétrasubstituée. La seule possibilité -cette double liaison étant exclue- est la présence d'un hétérocycle comportant le quatrième atome d'oxygène comme dans 13. L'établissement définitif de la structure de l'anhydroholanogénine, 10, et de son dérivé acétylé, 11, sera discuté plus loin. Ces structures, qui comportent deux groupements époxydes 18,20 ; 14 β ,20, sont d'autant plus vraisemblables que deux génines de ce type sont déjà connues : la stapélogénine, isolée d'une Asclépiadacée, Stapelia gigantea N. E. Br. , par REICHSTEIN et coll. (26), et l'adonilide, retirée d'une Renonculacée, Adonis amurensis Regel et Radd. , par SHIMIZU, SATO et MITSUHASHI (27).



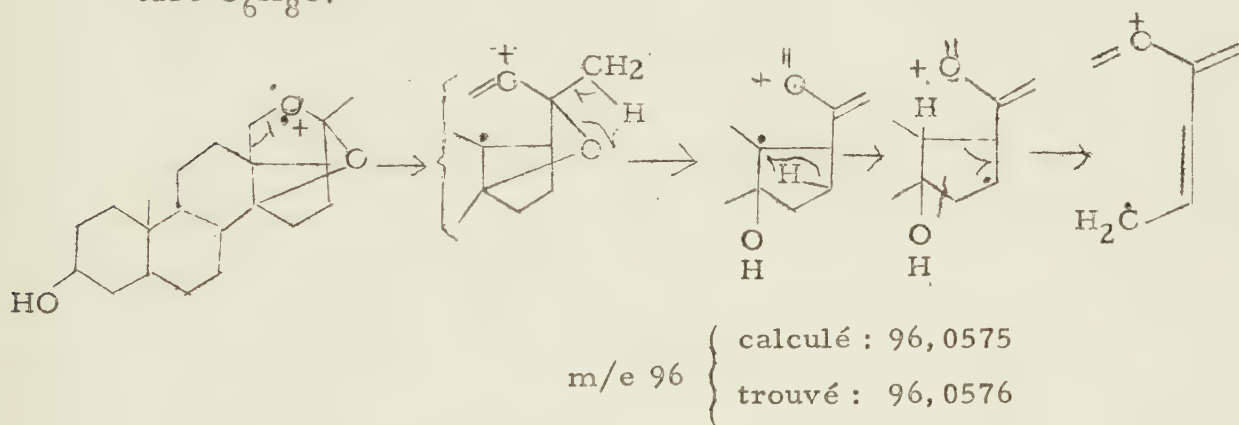
Stapélogénine (26)



Adonilide (27)

L'anhydroholantogénine, 10, est obtenue par saponification de son dérivé acétylé, 11. Les déplacements chimiques observés dans le spectre de R. M. N. sont sensiblement les mêmes que ceux rencontrés dans le dérivé O-acétylé, 11, le signal du proton 3α , lié à la fonction alcool, se situant à δ 3,60.

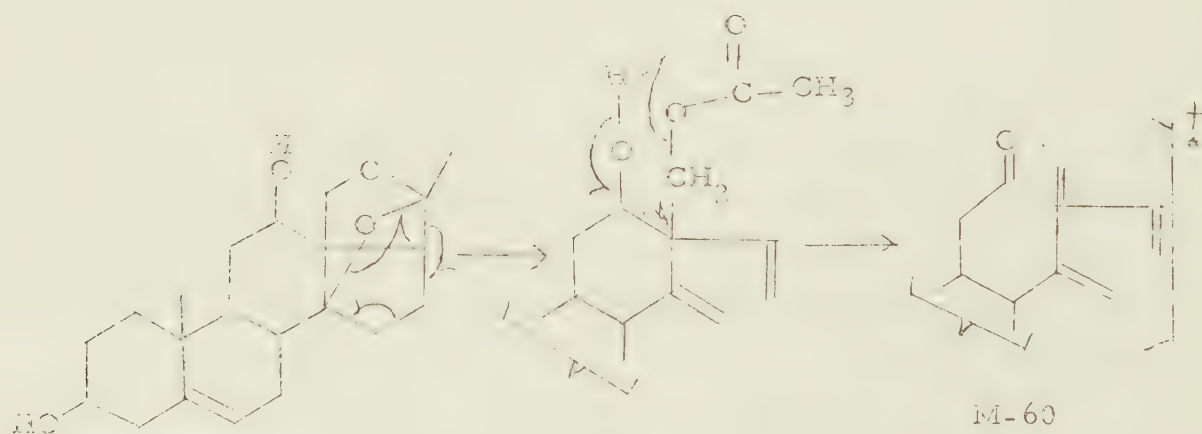
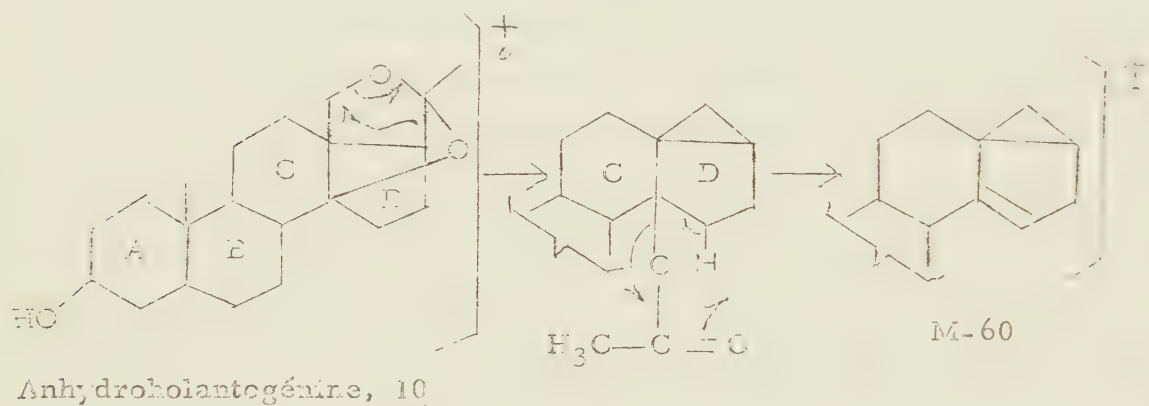
Spectre de masse : Les spectres de masse de l'anhydroholantogénine, 10, et de son dérivé O-acétylé, 11, confirment les formules brutes par des pics moléculaires respectivement à m/e 332 et à m/e 374. Dans les deux cas, on observe les pics M-60 et surtout un intense pic de base à m/e 96 dont la haute résolution permet de fixer la structure C_6H_8O .

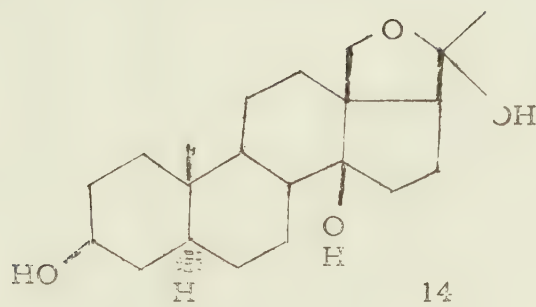


Si l'interprétation du pic à M-60 peut être faite à partir de l'ester acétique en 3 dans le cas de 11, un autre mécanisme doit être invoqué dans le cas de l'anhydroholantogénine, 10, mécanisme semblable pour le pic M-60-60 également rencontré dans le cas du dérivé acétylé, 11.

Un pic M-60 a été observé par EPPENBERGER, VETTER et REICHSTEIN dans le spectre de masse de la stapélogénine (26) ; le mécanisme proposé pour la formation de cet ion fait intervenir l'hy-

hydrogène de la fonction alcool, vraisemblablement en 12 β , pour expliquer l'élimination d'acide acétique. Nous proposons, dans le cas de l'anhydroholantogénine, 10, un mécanisme différent, qui reste à prouver, faisant intervenir un hydrogène en 15 et aboutissant à un ion m/e 272 comportant un cyclopropane conjugué à une double liaison ; sa filiation à partir du pic moléculaire est mise en évidence par un pic métastable à 223 :



2) - Holantogénine -

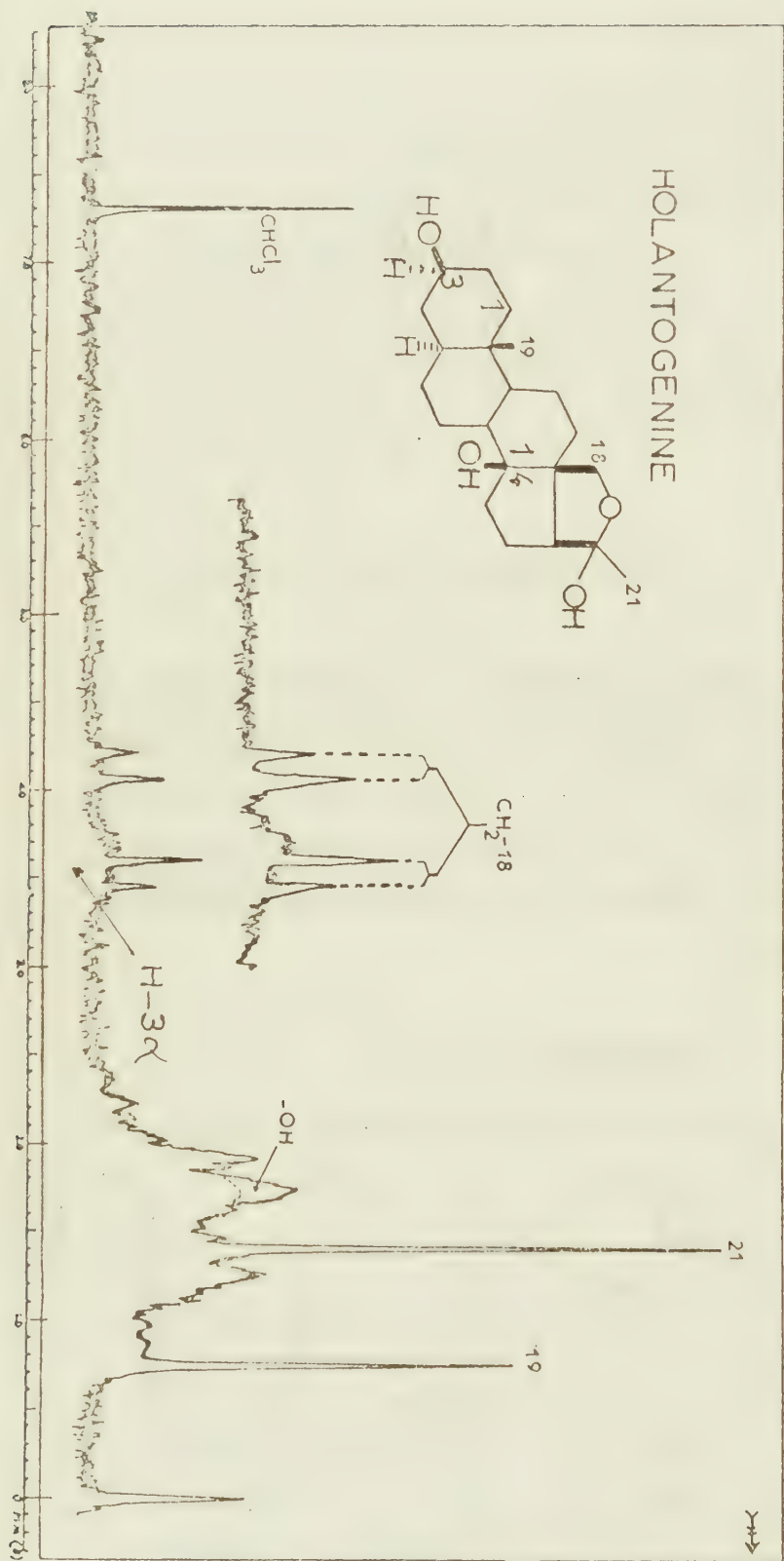
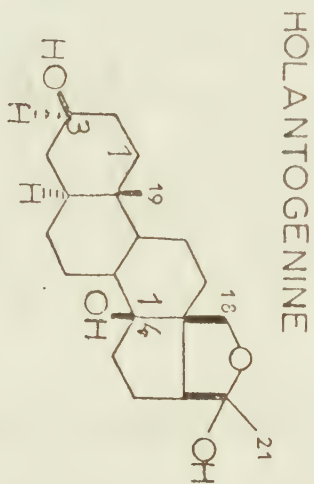
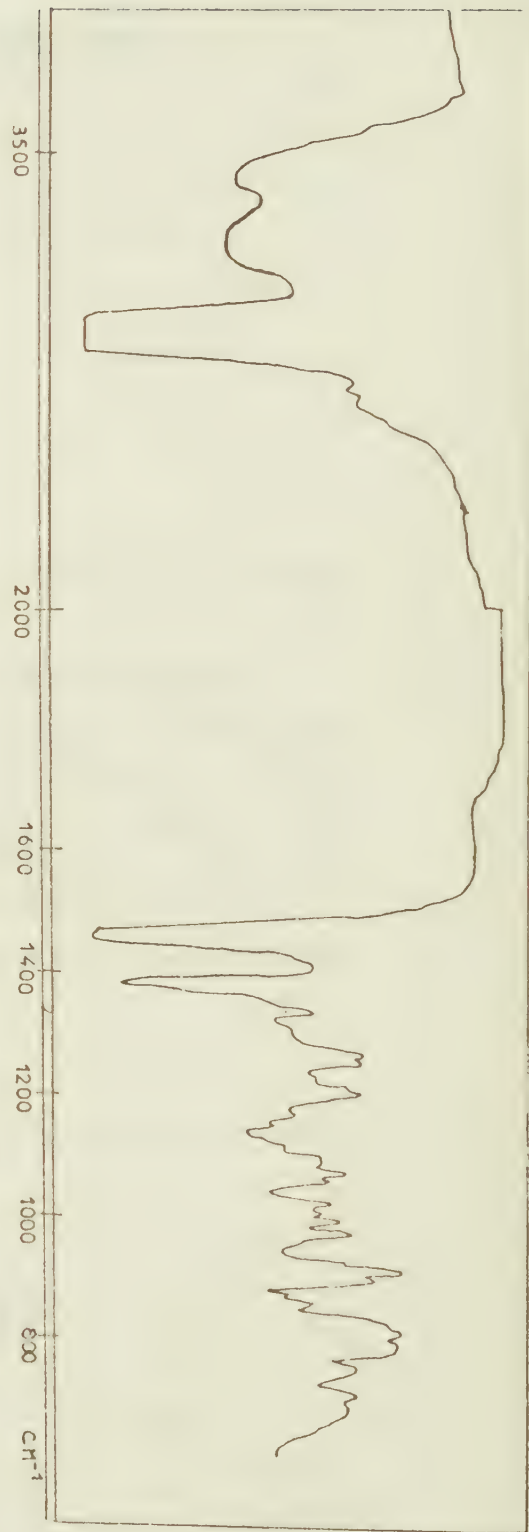
$$C_{21}H_{34}O_4 = 350,48$$

$$F = 125^\circ \text{ (Köfler)} \quad [\alpha]_D - 31^\circ \quad [M]_D - 111^\circ$$

L'anhydroholantogénine, 10, traitée à la température ordinaire par le dioxanne aqueux, et abandonnée à 0° , conduit à l'holantogénine, 14, qui cristallise. Plus polaire en C. C. M. que l'anhydroholantogénine, 10, l'étude des spectres I. R. et de R. M. N. montre que 14 et 10 sont bien deux produits différents : ces résultats sont consignés dans le tableau II suivant :

TABLEAU II

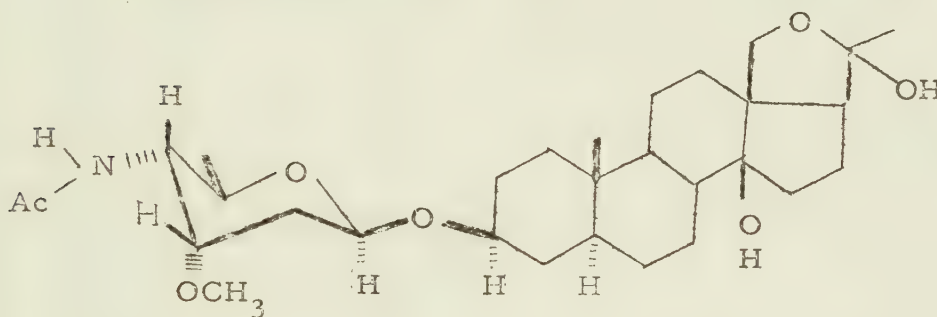
	<u>10</u>	<u>14</u>
R. M. N.		
CH ₃ -17	<u>s</u> δ 0,82	<u>s</u> δ 0,75
CH ₃ -21	<u>s</u> δ 1,40	<u>s</u> δ 1,40
CH ₂ -18	AB : A δ 3,66 B δ 4,05 (J=8Hz)	AB : A δ 3,53 B δ 4,13 (J=9Hz)
I. R.	ν (OH) 3440cm ⁻¹	ν (OH) 3450 et 3150cm ⁻¹



Le spectre de masse de l'holantogénine, 14, est identique à celui de l'anhydroholantogénine, 10. Ceci sera discuté plus loin.

III AMINO-GLYCO-STEROIDES

1) - N-acétylholantosine-A -

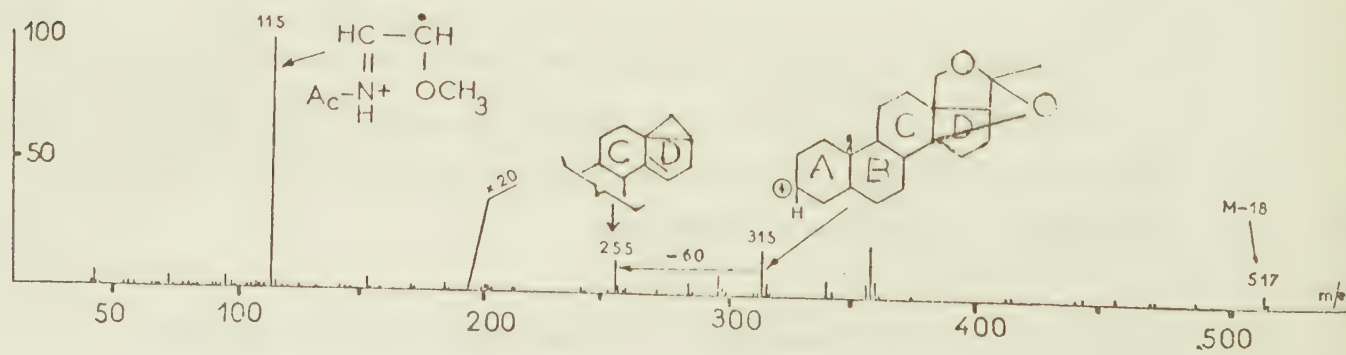
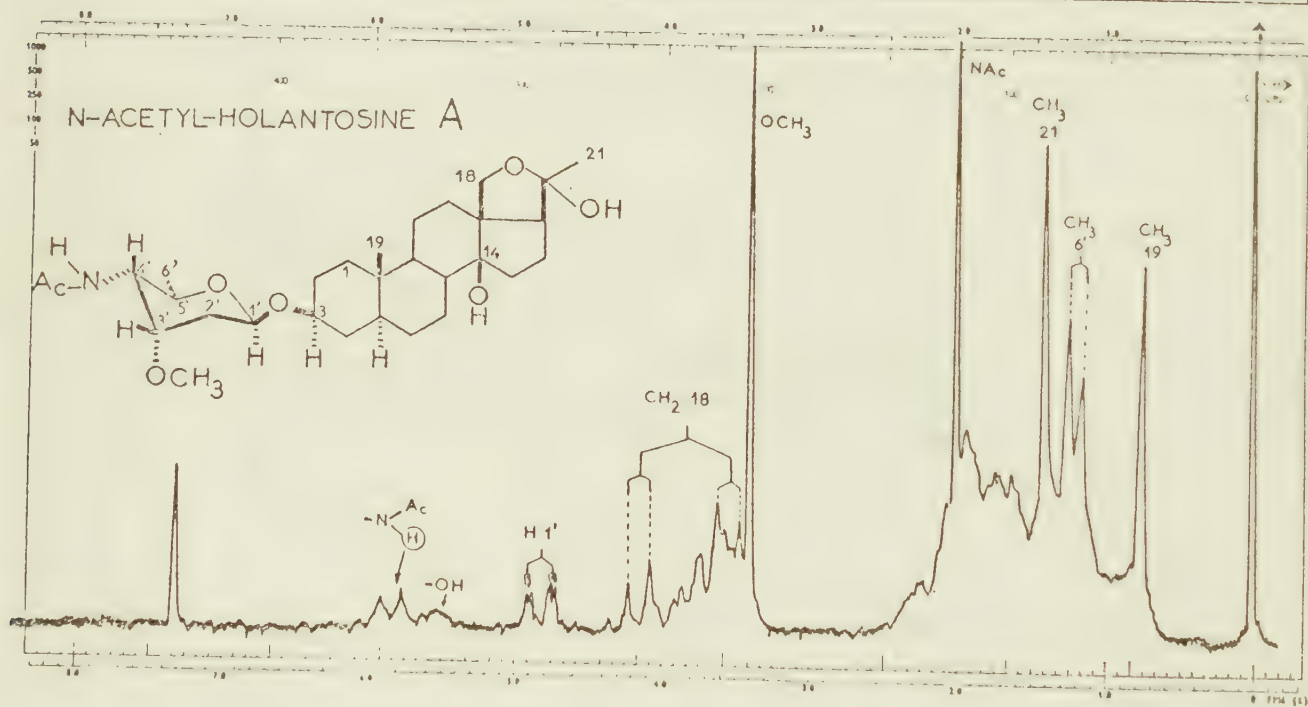
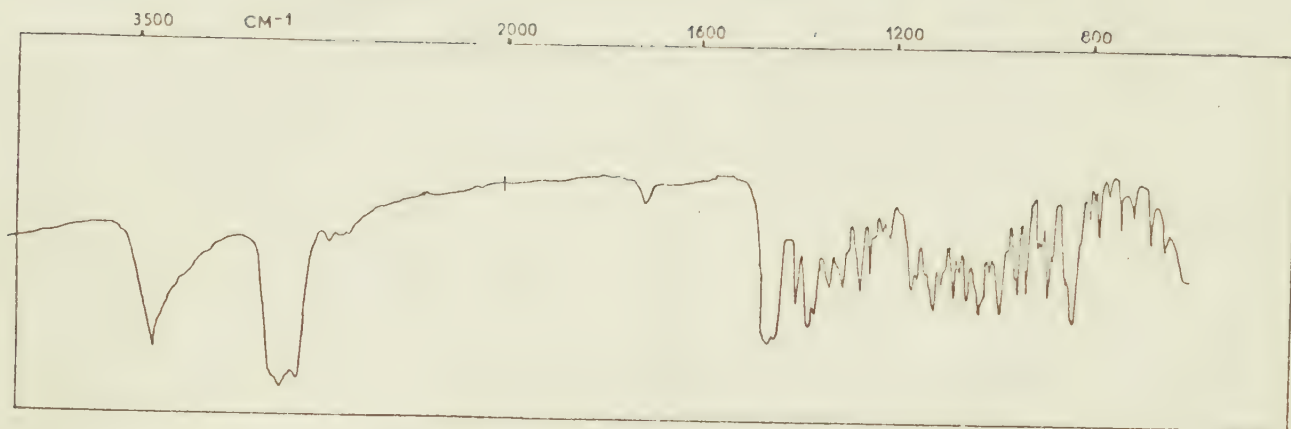


$$C_{30}H_{49}O_7N = 535,70$$

$$F = 261^\circ \text{ (Köfler)} \quad [\alpha]_D - 28^\circ \quad [M]_D - 149^\circ$$

Cet amino-glyco-stéroïde a pu être isolé des fractions neutres par chromatographie des dérivés neutres "M", après acétylation pyridinée des bases brutes (schéma II), il est obtenu sous forme de dérivé N-acétylé et cristallise de l'acétone.

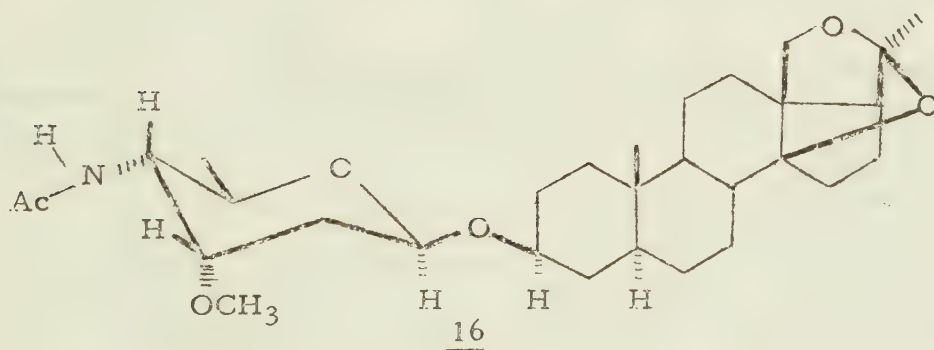
Spectre I. R. : Il présente des vibrations $NHCOCH_3$ à 3320, 1650 et 1450cm^{-1} .



Spectre de masse : On n'observe pas d'ion moléculaire à m/e 535, mais un pic M-18 à m/e 517. Les principaux ions rencontrés sont les suivants : m/e 315, qui correspond à la partie stéroïdique de la molécule, l'ion m/e 255 qui provient (avec métastable correspondant) de l'ion m/e 315 par perte d'une molécule d'acide acétique. Le pic de base est l'ion radicalaire m/e 115 sur lequel nous reviendrons.

Spectre de R. M. N. (tableau III) : Il est caractérisé par des signaux sensiblement identiques à ceux de l'holantogénine, 14; on observe également les signaux correspondant à l'autre partie de la molécule, notamment deux singulets de OCH_3 , $NHCOCH_3$ et le doublet d'un méthyle secondaire.

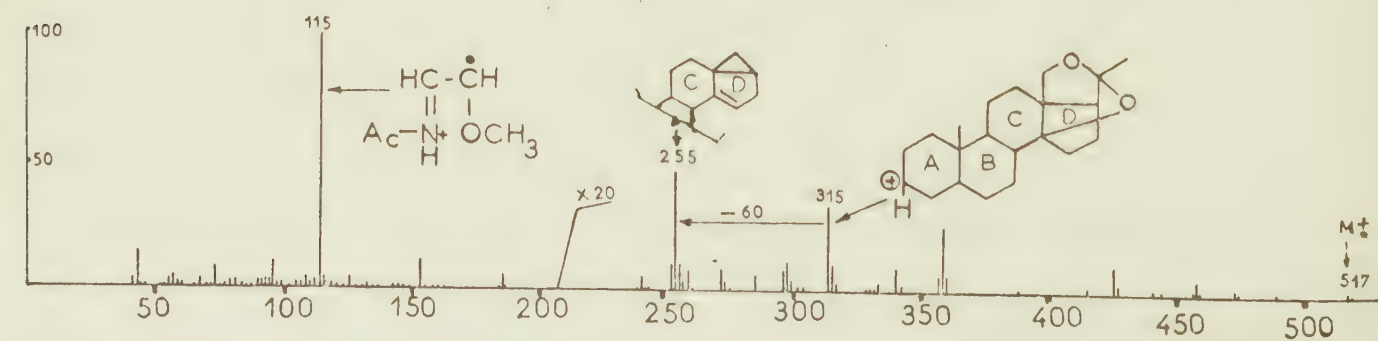
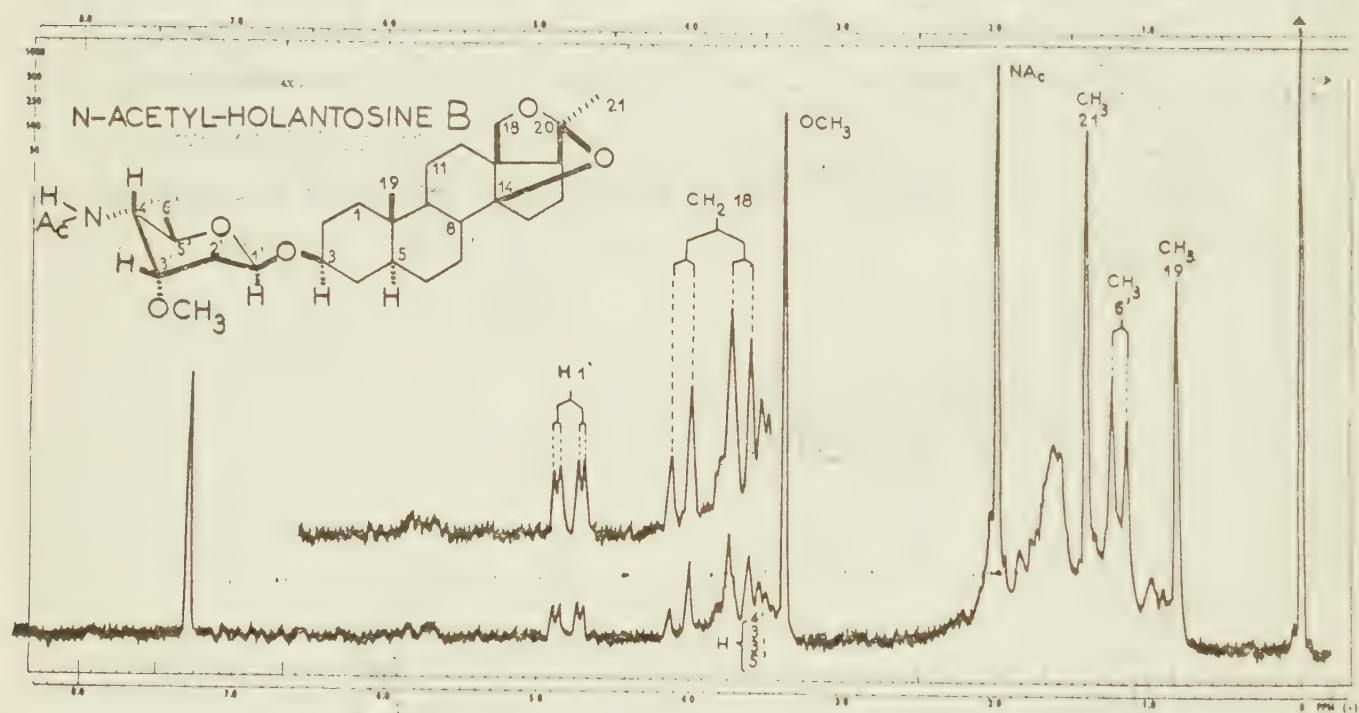
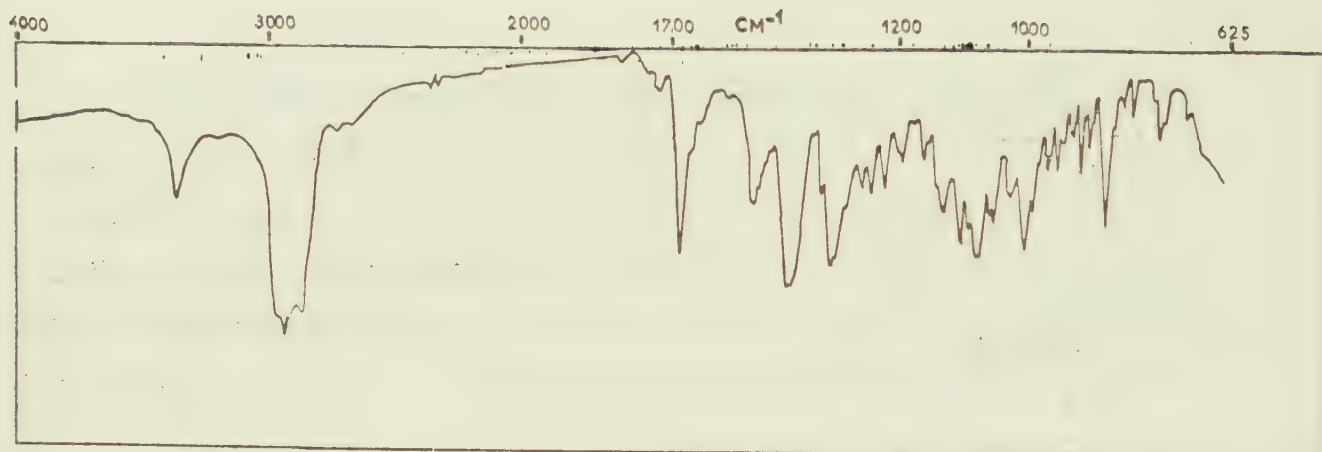
2) - N-acétylholantosine-B -



$$C_{30}H_{47}O_6N = 517,68$$

$$F > 290^\circ$$

$$[\alpha]_D - 29^\circ \quad [M]_D - 150^\circ$$



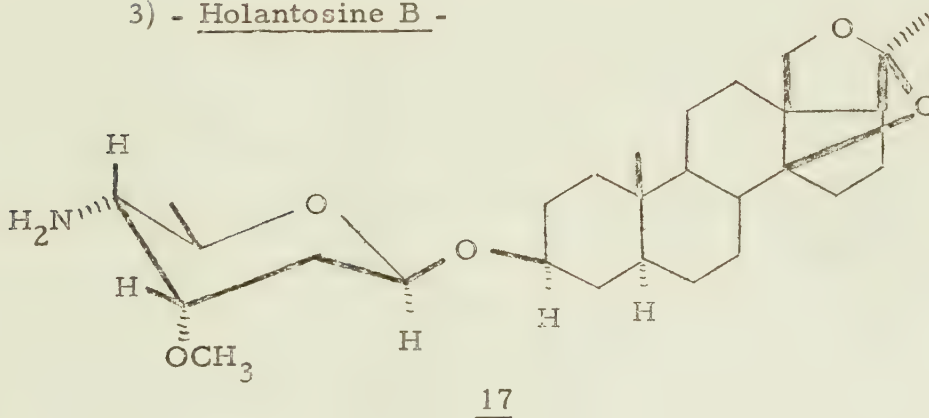
La N-acétylholantosine-B, 16, est obtenue par chromatographie des dérivés neutres^M après acétylation pyridinée des bases brutes (voir schéma II) ; de caractère moins polaire que la N-acétylholantosine A, 15, elle est comme cette dernière, cristallisée dans l'acétone

Spectre I. R. : Il présente une vibration NHCOCH_3 à 3360, 1620 et 1560cm^{-1} .

Spectre de masse : L'ion m/e 517 = M^+ confirme la formule brute. Ce spectre, identique à celui de la N-acétylholantosine A, 15, sera détaillé plus loin.

Spectre de R. M. N. : Il est constitué par la superposition des signaux de l'anhydroholantogénine, 10, et ceux déjà observés dans le cas de la N-acétylholantosine A, 15, c'est-à-dire singulets de OCH_3 , NHCOCH_3 et doublet d'un méthyle secondaire (voir tableau III).

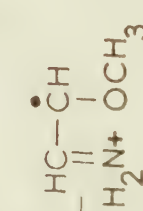
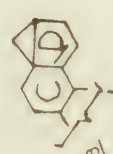
3) - Holantosine B -



$$\text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{O}_5\text{N} = 475,65$$

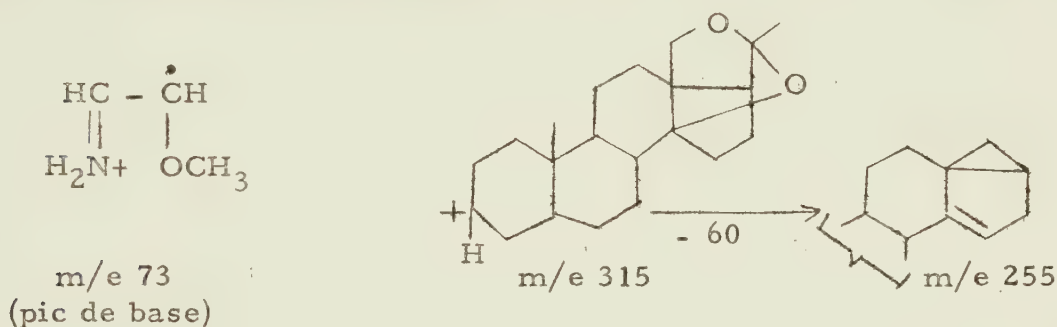
$$[\alpha]_D - 31^\circ$$

$$[M]_D - 147^\circ$$



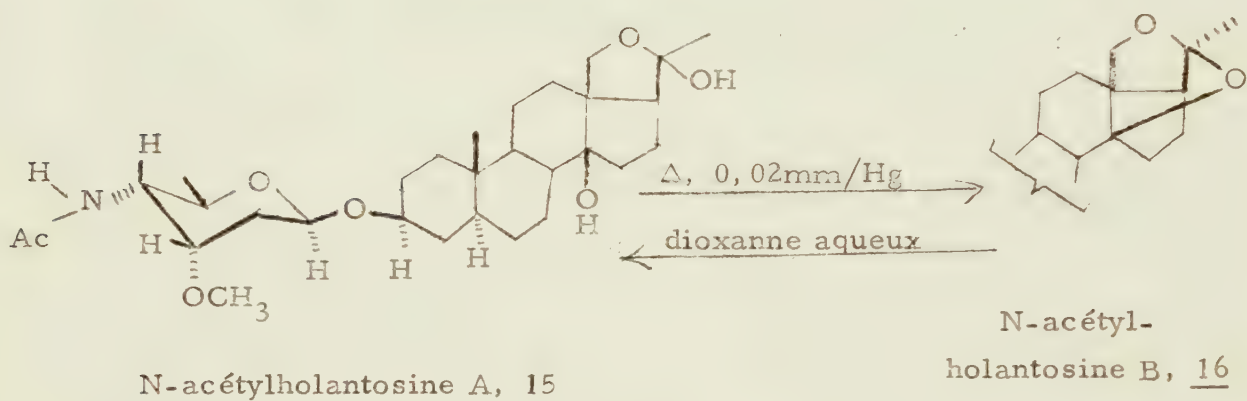
L'holantosine B, 17, est obtenue par saponification de la N-acétylholantosine B, 16, en tube scellé à la température de 170°. Elle n'a pu être obtenue cristallisée dans les solvants usuels ; purifiée par sublimation à 170°/0,02mm/Hg, on obtient une laque transparente pure en C. C. M.

Spectre de masse : L'ion m/e 475 = M^+ est en accord avec la formule brute. Les principaux ions rencontrés sont les suivants :



Spectre de Il comporte : deux singulets de méthyles tertiaires : CH_3 -19 et CH_3 -21, respectivement à δ 0,82 et 1,24 ; un système AB, méthylène en 18, dont la partie A est centrée à δ 3,66 et la partie B à δ 4,05 ($J = 8$ Hz) ; un doublet de méthyle secondaire, CH_3 -6', centré à δ 1,25 ($J = 6$ Hz) ; le singulet de OCH_3 est signalé à δ 3,41, le proton 1', doublet dédoublé est centré à δ 4,80 ($J = 10$ et $J' = 2$ Hz). Les protons 3, 3', 4' et 5' forment un multiplet entre δ 3,42 et 3,75.

INTERCONVERSIONS ENTRE LA N-ACÉTYLHOLANTOSINE A
ET LA N-ACÉTYLHOLANTOSINE B

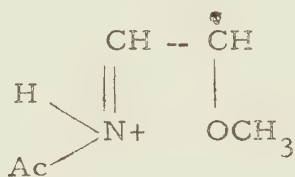


Comme dans le cas de l'interconversion de l'anhydroholantogénine, 10, et de l'holantogénine, 14, la N-acétylholantosine A, 15, donne la N-acétylholantosine B, 16, par sublimation sous vide poussé à 200°, et inversement, 16 donne 15 dans le dioxanne aqueux.

Comme il a été observé à propos de 10 et de 14, la N-acétylholantosine A, 15, est plus polaire que la N-acétylholantosine B, 16 ; on observe, d'autre part, dans les spectres de R. M. N. de 15 et de 16, les mêmes différences dans les déplacements chimiques des méthyles 19 et du système AB du méthylène en 18 que ceux signalés à propos de 10 et de 14. Les différences observées dans les spectres de R. M. N. des composés 10, 14, 15 et 16 sont consignés dans le tableau III. Bien que les spectres de masse de 15 et 16 soient identiques, on peut affirmer que, comme dans le cas de 10 et de 14, il s'agit de deux produits différents. A ce stade, il est possible d'avancer, pour les holantosines A et B, les hypothèses de structure d'amino-glyco-stéroïdes

du type holacurtine (8) ou mitiphylline (9). La génine serait constituée par l'holantogénine, 14, pour la N-acétylholantosine A, 15, et par l'anhydroholantogénine, 10, pour la N-acétylholantosine B, 16. A ces génines correspond un même sucre aminé dont la structure sera établie plus loin et auquel sera donné le nom d'holosamine.

Les spectres de masse des N-acétylholantosines A et B, 15 et 16, qui sont identiques, donnent des renseignements sur la partie stéroïdique de la molécule et le sucre aminé qui lui est lié. Le pic de base qui se situe à m/e 115 correspond à l'ion :



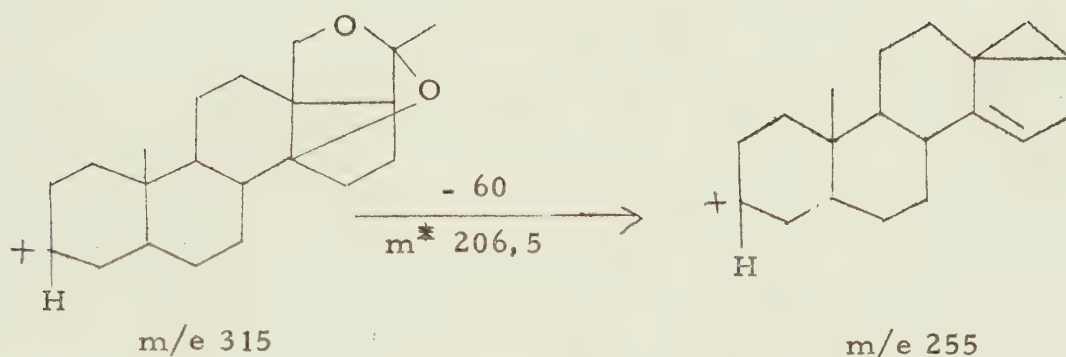
m/e 115

et indique la situation vicinale des groupes OCH_3 et NHCOCH_3 dans le sucre aminé. Un ion du même type avait été observé dans le cas de la N-acétylholacurtine (8). Bien que de faible intensité, un ion est observé à $M-18-202$ pour 15, à $M-202$ pour 16, c'est-à-dire à m/e 315 ; cet ion correspond à la fraction stéroïdique. Par perte d'une molécule d'acide acétique (- 60), l'ion m/e 315 engendre l'ion m/e 255, le mécanisme de formation de ce dernier (cyclopropane conjugué à une double liaison) a déjà été discuté dans le cas de l'anhydroholantogénine, 10:

	holantogérine <u>14</u>	Anhydroholantogénine, <u>10</u>	N-acétylholantorine A <u>15</u>	N-acétylholantosine B <u>16</u>
CH ₃ -19	0, 75	0, 82 <u>s</u>	0, 74 <u>s</u>	0, 82 <u>s</u>
CH ₃ -21	1, 40	1, 40 <u>s</u>	1, 40 <u>s</u>	1, 40 <u>s</u>
CH ₂ -18 $\left\{ \begin{array}{l} A \\ B \end{array} \right.$	3, 53 <u>d</u> (J=9Hz) 4, 16 <u>d</u> (J=9Hz)	3, 66 <u>d</u> (J=8Hz) 4, 05 <u>d</u> (J=8Hz)	3, 53 <u>d</u> (J=9Hz) 4, 16 <u>d</u> (J=9Hz)	3, 66 <u>d</u> (J=8Hz) 4, 05 <u>d</u> (J=8Hz)
OCH ₃			3, 40 <u>s</u>	3, 40 <u>s</u>
NHCOCH ₃			2, 00	2, 00 <u>s</u>
CH ₃ -6'			1, 19 <u>d</u> (J=5Hz)	1, 19 <u>d</u> (J=5Hz)
H-1'			4, 78 <u>Dd</u> (J=10 ; J'=3)	4, 78 <u>Dd</u> (J=10 ; J'=3)
Protons 3, 3', 4', 5'			3, 30-4, 20 <u>m</u>	3, 30-4, 20 <u>m</u>

Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm. Les abréviations : s = singulet, d = doublet, Dd = doublet dédoublé, m = multiplet. Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz.

TABLEAU III

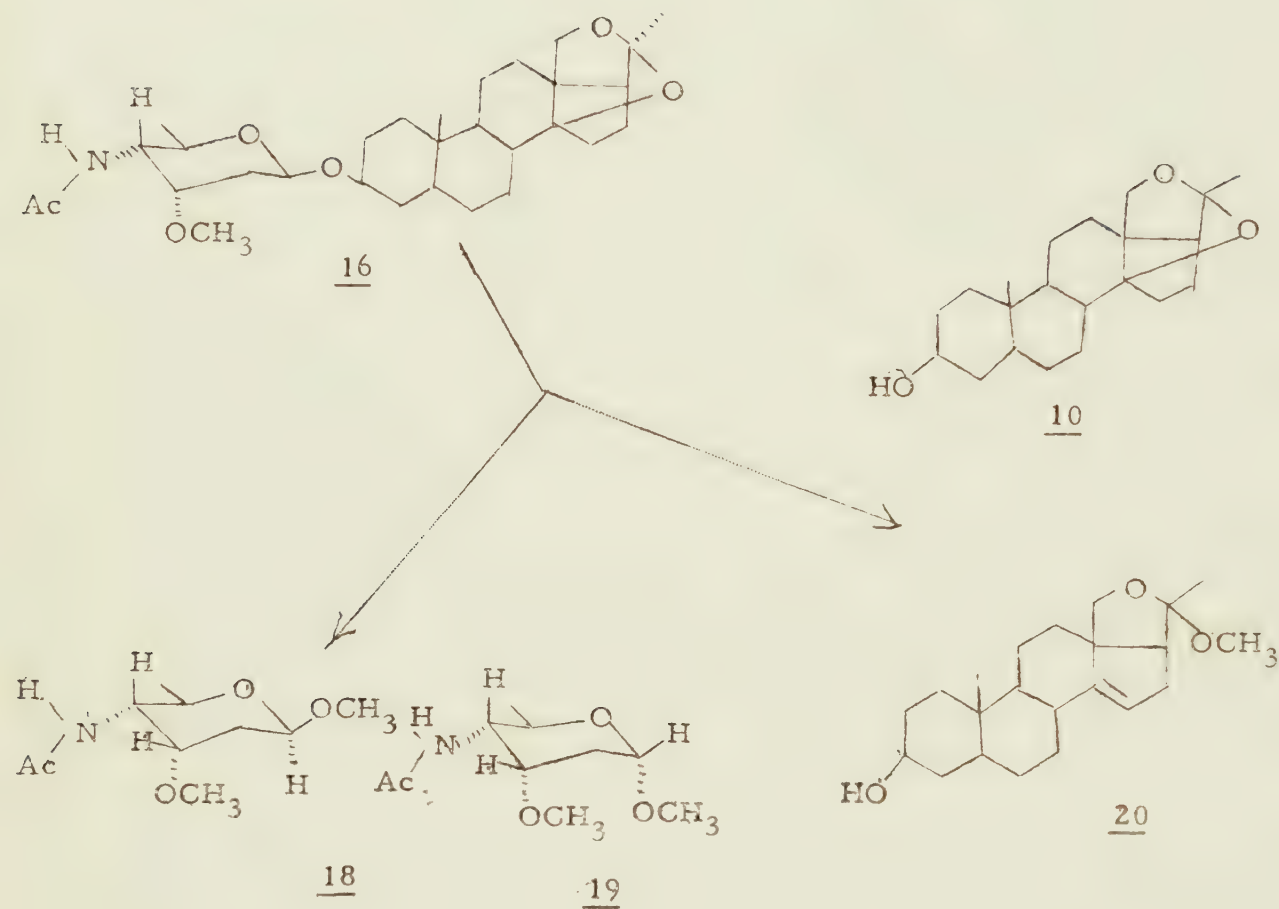


ETABLISSEMENT DE LA STRUCTURE DE LA N-ACÉTYLHOLANTOSINE B

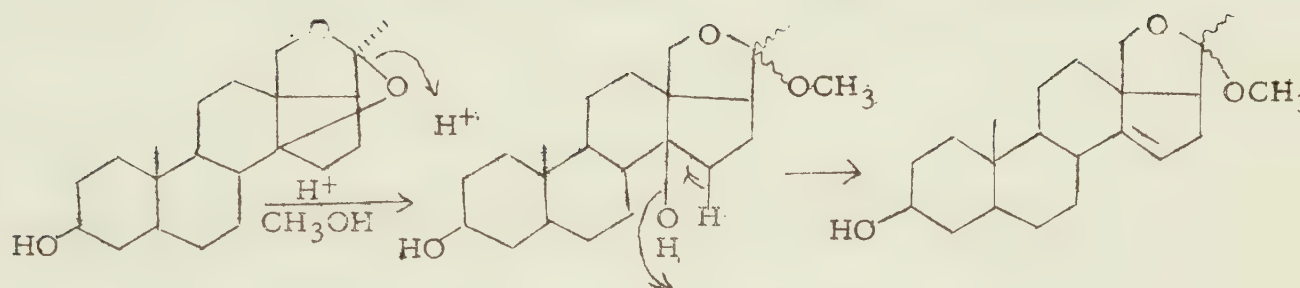
Les inter-relations existant entre les N-acétylholantosine A et B, 15 et 16, ayant été démontrées, l'établissement de structure de ces deux alcaloïdes a été fait à partir de la N-acétylholantosine B, 16, par une série de réactions :

1) - Méthanolyse acide de la N-acétylholantosine B, 16

Cette réaction a été réalisée dans le méthanol chlorhydrique N à la température ambiante. Comme dans le cas de l'holacurtine (8), elle conduit à deux fractions, l'une non azotée, soluble dans la phase organique, et l'autre, azotée, soluble dans la phase aqueuse.



a) - Fraction non azotée - Elle est constituée par deux produits, l'un de ceux-ci est identifié à l'anhydroholantogénine, 10, l'autre est défini comme étant le dérivé méthoxylé de la (5α)-prégnène-14 diol-3β, 18 one-20 (18→20 cyclohémicétal), 20 ; sa structure est établie par spectrométries de masse et de R. M. N. La méthanolyse acide provoquerait dans un premier temps rupture de la liaison osidique ; puis rupture partielle de la liaison hémicétalique 20-O-14, entraînant une stabilisation par attaque de CH_3O^- en 20, puis élimination d'une molécule d'eau à partir de l'alcool en 14 :



10 Anhydroholantogénine

Le dérivé 20 a pu être obtenu par méthanolyse chlorhydrique de l'anhydroholantogénine, 10,; obtenu cristallisé dans le méthanol, il présente les constantes physiques et les données spectrales suivantes :

$$F = 140^{\circ}$$

$$[\alpha]_D + 72^{\circ}$$

I. R. : son spectre I. R. présente des vibrations OH vers 3300cm^{-1} et C=C à 1660cm^{-1} .

Spectre de masse : $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_3 = 346,49$: il confirme la formule brute par la présence de pic moléculaire à m/e 346. Sont présents les pics m/e 316 (M-30), m/e 301 (M-30-15), m/e 272 (M-30-15-29).

Spectre de R. M. N. : il comporte les signaux suivants : singulets à δ 0,77 (CH_3 -19), δ 1,33 (CH_3 -21), δ 3,18 (OCH_3) ; système AB, CH_2 -18, dont la partie A est centrée à δ 3,50 et la partie B à δ 3,77 ($J = 7\text{ Hz}$) ; multiplet centré à δ 5,05 (H en 15) ; multiplet entre δ 3,50 et 3,85 (H en 3 axial).

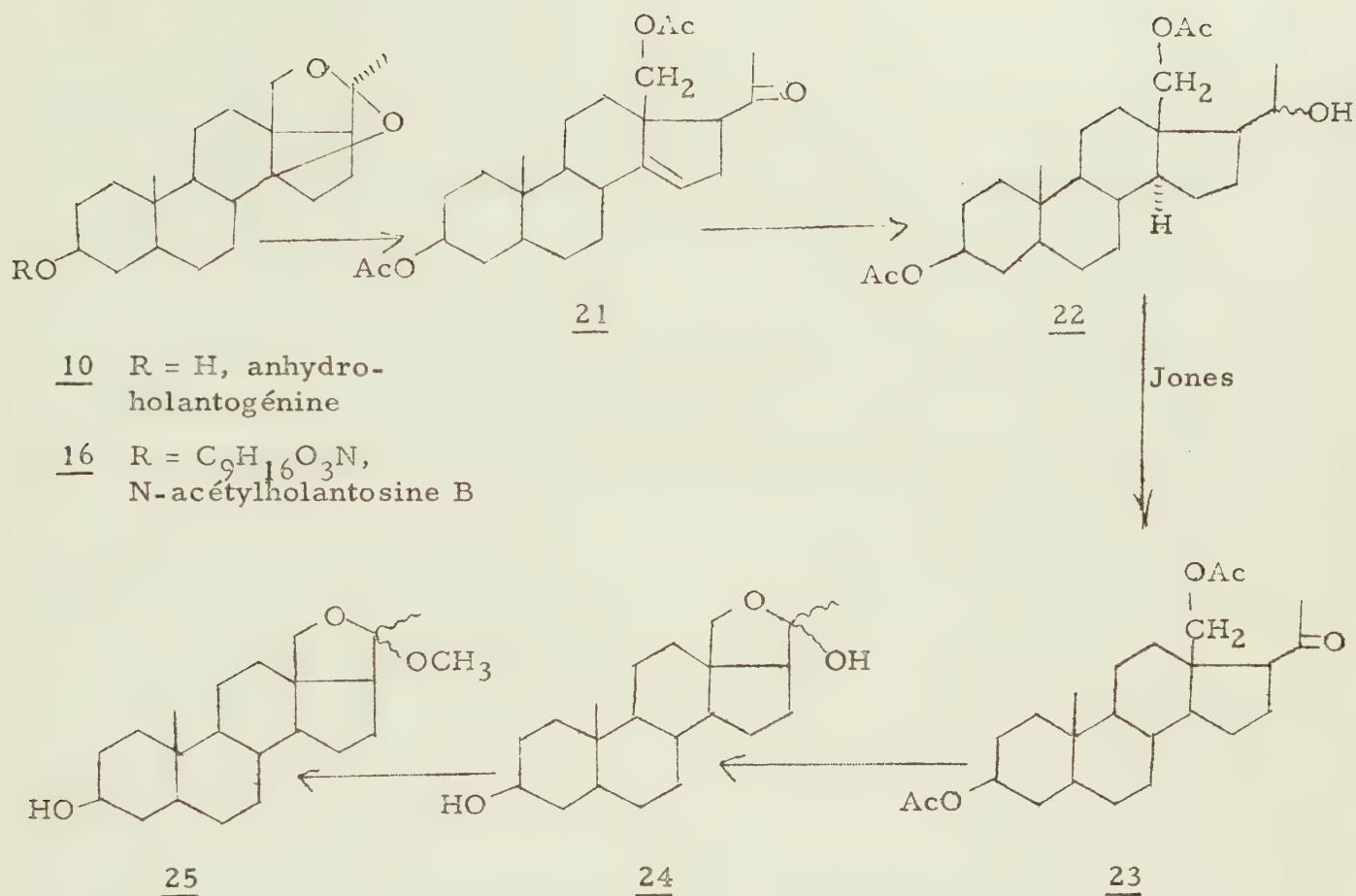
b) - Fraction azotée - Par C. C. M. préparative, les deux anomères 18 et 19 sont obtenus purs et le β -méthyl glycoside, 16, cristallise de l'hexane. Les constantes physiques et les données spectrales de ces deux produits sont consignées dans le tableau IV, p. 61.

2) - Détermination de la structure de l'anhydroholantogénine, 10

Celle-ci a été faite par ouverture acétylante de l'anhydroholantogénine, 10, et de la N-acétylholantosine B, 16, par l'anhydride acétique en présence d'acide para-toluène sulfonique (TsOH). Dans le cas de la N-acétylholantosine B, 16, cette réaction conduit à deux fractions : l'une non azotée renfermant la partie stéroïdique et l'autre azotée renfermant le sucre aminé. Cette dernière sera traitée dans un chapitre à part, p. 63 .

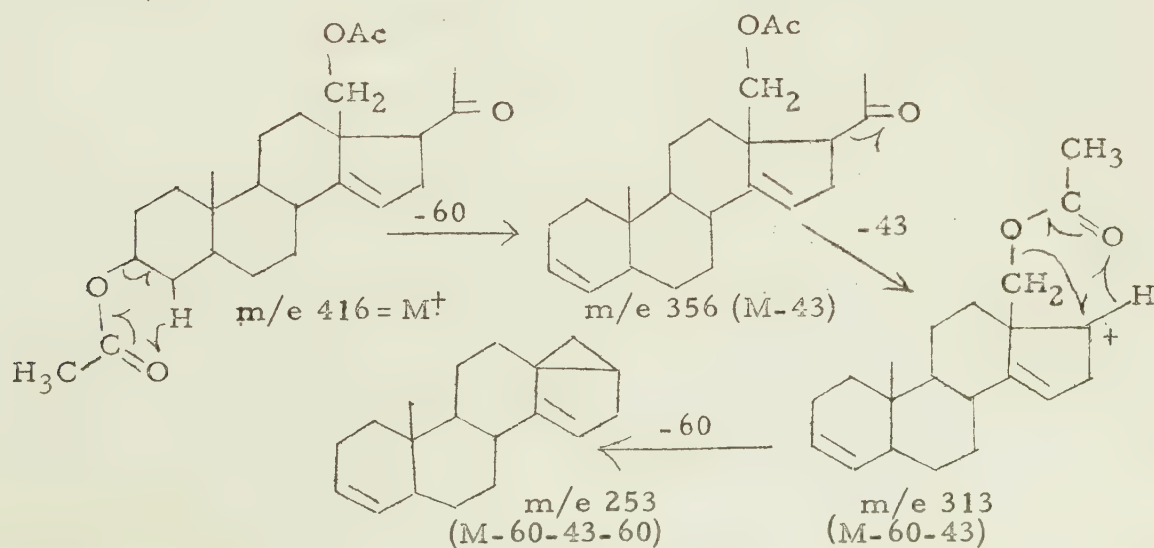
Fraction non azotée -

Le dérivé 21 présente, dans son spectre I. R. , des bandes d'absorption ester à 1745, 1735, 1250 et 1030 cm^{-1} , une bande carbonyle à 1710 cm^{-1} . On observe, dans son spectre de R. M. N. , 4 singulets : CH_3 -19 à δ 0,82, CH_2OAc à δ 1,97, OAc à δ 2,00 et COCH_3 à δ 2,20 ; un doublet centré à δ 4,00 (CH_2OAc en 18). Le proton en 15 apparaît sous forme de multiplet centré à δ 5,27. Le proton en 3 est signalé par un multiplet élargi vers δ 4,70, ceci indique la position 3β du groupement OAc en 3.



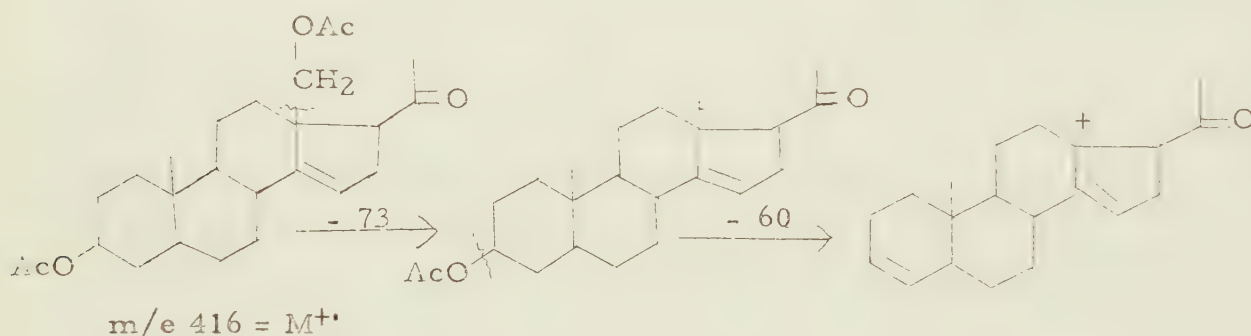
Le spectre de masse du dérivé **21** confirme la formule brute par la présence de l'ion moléculaire à m/e 416 ($C_{25}H_{36}O_3 = 416, 54$). Dans ce spectre, on observe deux séries d'ions :

1^{ère} série : ce sont les ions m/e 416, 356, 313, 253 suivants :

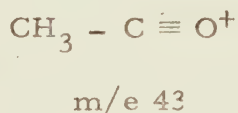


La filiation de ces ions est confirmée par la présence de pics métastables correspondants : $m^* 304,6$ ($416 \rightarrow 356$), $275,5$ ($356 \rightarrow 313$), $204,5$ ($313 \rightarrow 253$).

2ème série d'ions : elle comprend un pic à m/e 343 (M-73), puis un pic à m/e 283 (M-73-60) ; l'ion m/e 343 provenant de la rupture homolytique de la liaison 13-18, favorisée par sa position allylique :



Le pic de base du dérivé 21 est l'ion m/e 43 suivant :



Toutes ces données permettent de définir 21 comme étant le diacétoxy-3 β , 18 (5 α)-prégnène-14 one-20.

Le dérivé 21 a été hydrogéné catalytiquement (platine d'Adams) ce qui entraîne une hydrogénation du carbonyle en 20 donnant un mélange d'alcools 20 β et 20 α , 22. Aussi, 22 est-il immédiatement réoxydé par le réactif sulfochromique de Jones (24) en diacétoxy-3 β , 18 (5 α)-prégnane-14 α one-20, 23. Les groupes acétyles de 23 sont saponifiés et

le produit obtenu est identifié comme étant le prégnane-5 α diol-3 β , 18 one-20 (18 $\rightarrow$ 20 cyclohémicétal), 24. La cristallisation de ce dernier dérivé dans le méthanol, en présence d'une goutte d'acide chlorhydrique 4N, conduit au dérivé méthoxylé de la prégnane-5 α diol-3 β , 18 one-20 (18 $\rightarrow$ 20 cyclohémicétal), 25, connu qui présente les caractéristiques suivantes : $F = 170-172^\circ$; $[\alpha]_D + 58^\circ$. LABLER et SORM indiquent, pour le même produit, préparé à partir de l'holarrhimine (28) : $F = 175^\circ$; $[\alpha]_D + 75^\circ$. De telles différences dans le pouvoir rotatoire d'éther méthylique d'hémicétal 18 $\rightarrow$ 20 sont fréquentes et paraissent dues à une incertitude sur la stéréochimie en 20 (29). Le dérivé 25 présente les données spectrales suivantes :

I. R. : vibration OH vers 3300cm^{-1} .

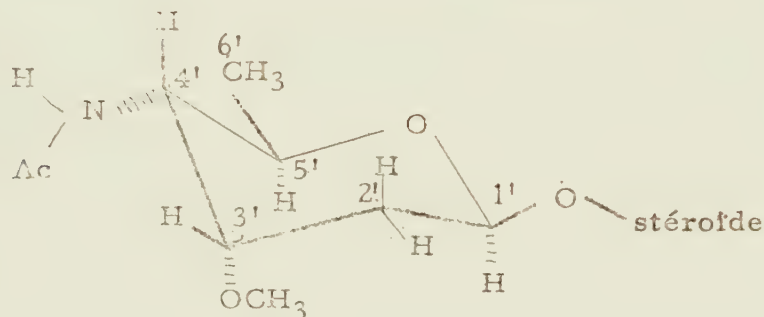
Spectre de masse : il confirme la formule brute, $M^+ = 348$ ($\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_3 = 348,51$), pics à m/e 316 (M-32, pic de base), m/e 274 (M-32-42), m/e 259 (M-32-42-15), m/e 241 (M-32-42-15-18), m/e 43. Les métastables relevés sont les suivants : $m^* 237,6$ (316 $\rightarrow$ 274), 244,8 (274 $\rightarrow$ 259), 224,2 (259 $\rightarrow$ 241).

Spectre de R. M. N. : on note dans ce spectre les signaux suivants : singulets à δ 0,75, 1,33 et 3,18, qui correspondent respectivement à : CH_3 -19, CH_3 -21 et OCH_3 . Un système AB (CH_2 -18) dont la partie A est centrée à δ 3,43 et la partie B à δ 3,70 ($J = 9$ Hz).

3) - Détermination de la structure de l'amino-sucré

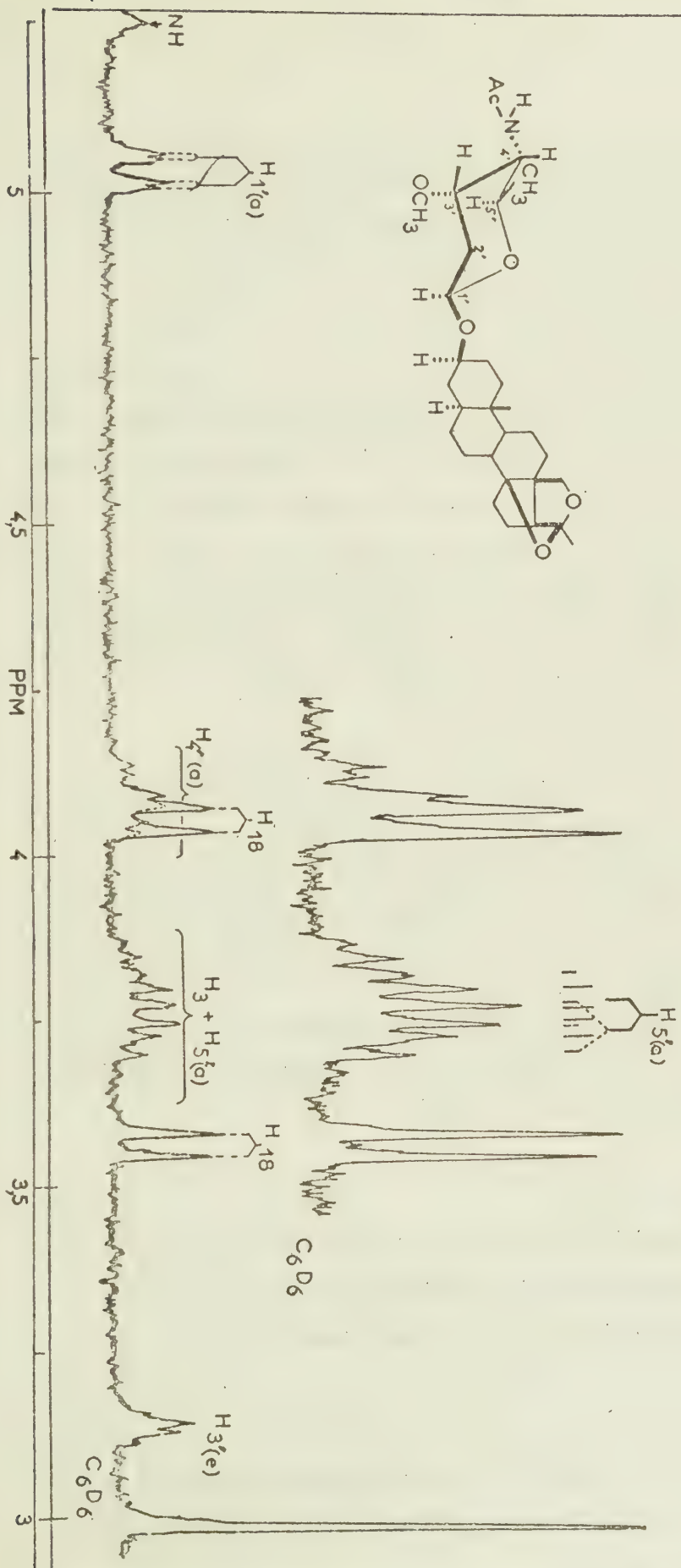
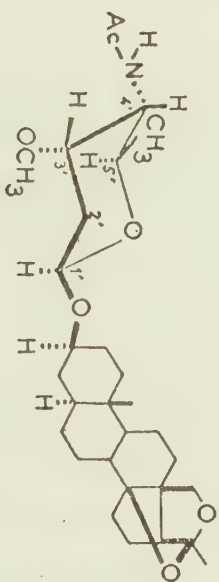
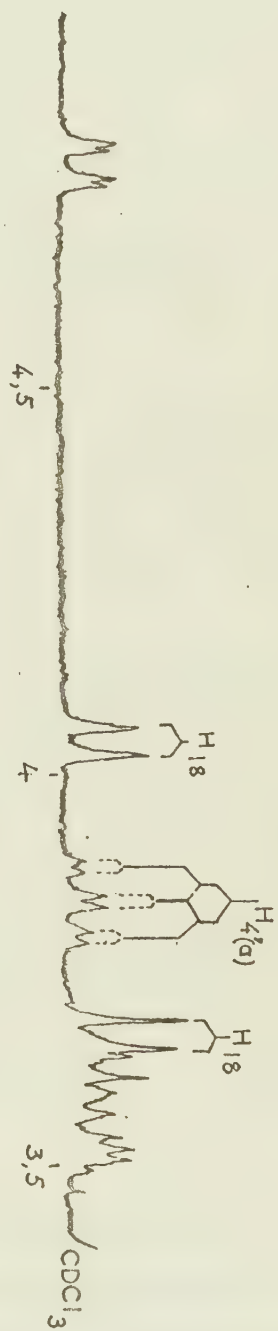
A partir du spectre de R. M. N. à 220 MHz de la N-acétylholantosine

B, 16



a) - La configuration relative de tous les éléments de cet amino-sucré a été déterminée grâce au spectre de R. M. N. à 220 MHz de la N-acétylholantosine B, 16. En dehors de tous les éléments déjà bien visibles sur le spectre à 60 MHz, c'est-à-dire NHCOCH_3 (singulet à δ 2,00), OCH_3 (singulet à δ 3,40), CH_3 6' (doublet à δ 1,19 ; $J = 5\text{ Hz}$) et H 1' (doublet dédoublé centré à δ 4,78 ; $J = 9,5$ et $J' = 2\text{ Hz}$), les spectres à 220 MHz permettent de déterminer la configuration et les couplages des protons 3', 4' et 5'.

- Le signal du proton 1', doublet dédoublé, est parfaitement identique à celui observé dans l'holacurtine (8). Il est caractéristique d'une liaison glycosidique β . En raison de ses constantes de couplage avec les deux hydrogènes d'un méthylène en 2' (désoxy-2' surcure) : $J_{1'a,2'a} = 9,5\text{ Hz}$ et $J_{1'a,2'e} = 2,00\text{ Hz}$, il ne peut être qu'un hydrogène axial.



SPECTRE DE R.M.N. A 220 MHz DE LA N-ACÉTYLHOLANTOSINE B, 16

- Le proton 3' : dans la région des protons du type O-CH-R (c'est-à-dire de δ 3 à 4,5), le proton 3' est représenté par un signal étroit (J total = 12 Hz), convenant à un proton équatorial (couplage $e_a + e_e$ avec un proton en 4' et deux protons en 2').

- Signal du proton 5' : entre δ 3,70 et 3,90, il apparaît un massif étalé qui correspond à deux protons. Il est facile d'en dégager le proton en 3 α du stéroïde qui donne, habituellement, un multiplet élargi dans cette région. Le proton 5' donne un doublet avec le proton en 4' par couplage du type a, a (10 Hz), chaque signal du doublet donne à son tour un quadruplet par couplage avec les protons du méthyle 6' ; en définitive, le proton 5' apparaît sous forme d'un quadruplet dédoublé.

- Signal du proton 4' : dans le benzène deutérié, il est masqué par la partie B du système AB du méthylène en 18 du stéroïde, mais parfaitement visible dans le spectre effectué dans le chloroforme deutérié ; son signal est celui d'un proton axial qui donne un doublet par couplage avec le proton 5' axial ($J_{4'a, 5'a} = 10$ Hz) dédoublé une première fois par couplage avec le proton de l'amide ($J_{4'a, 5'NHAc} = 10$ Hz), puis dédoublé une deuxième fois par couplage avec le proton 3' équatorial ($J_{4'a, 5'} = 3$ Hz), soit au total un sextuplet.

Rappelons que la position vicinale de l'amide et du groupe méthoxy est confirmée par la présence de l'ion radicalaire m/e 115 déjà vu dans le spectre de masse de la N-acétylholantosine B, 16.

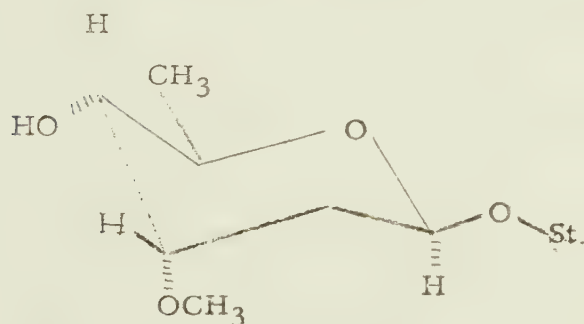
b) - La configuration absolue de la D-holosamine découle de plusieurs constatations : on sait qu'en général, dans les hétérosides

cardiotoniques auxquels les amino-glyco-stéroïdes sont tout-à-fait comparables, aux sucres de la série D correspondent des β -D-glyco-stéroïdes et aux sucres de la série L, les α -L-glycosides (31).

REICHSTEIN a montré que, dans les β -D-glycosides, la génine doit être équatoriale par rapport au carbone anomère en 1 du sucre et que, par contre, la génine est axiale lorsque le glycoside est de la série α -L (32).

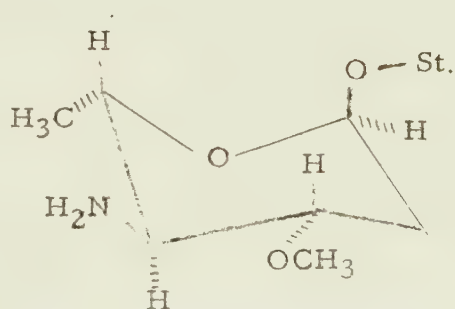
Il s'ensuit que la détermination par R. M. N. de la configuration axiale ou équatoriale du proton porté par le carbone anomère permet d'établir la configuration absolue β -D ou α -L de l'hétéroside.

Les deux amino-glyco-stéroïdes, les holantosines A et B, 15 et 16, sont des β -D-glycosides, le sucre sera donc appelé D-holosamine (30). Nous avons également isolé un amino-glyco-stéroïde, nommé holantosine C, dont l'établissement de la structure est en cours, mais que nous savons déjà être un glycoside de l'amino-4 désoxy-4 L-oléandroïde. Le spectre de R. M. N. de la N-acétylholantosine C établit nettement qu'il s'agit d'un α -L-glycoside, d'après la configuration équatoriale du proton anomère du sucre aminé.



Cymarine (β -D-glycoside)

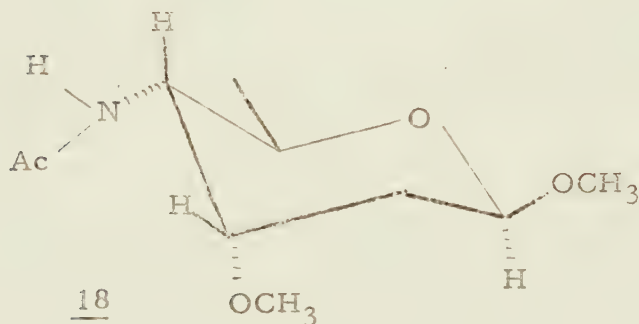
H 1' (doublet) δ 4,77 (CDCl_3)
 $J = 9,5$; $J' = 2,00$ Hz.



Oléandrine (α -L-glycoside)

A partir du β -méthyl-glycoside, 18

a) - Etude du β -méthyl glycoside naturel -



$$C_{10}H_{19}O_4N = 217,26$$

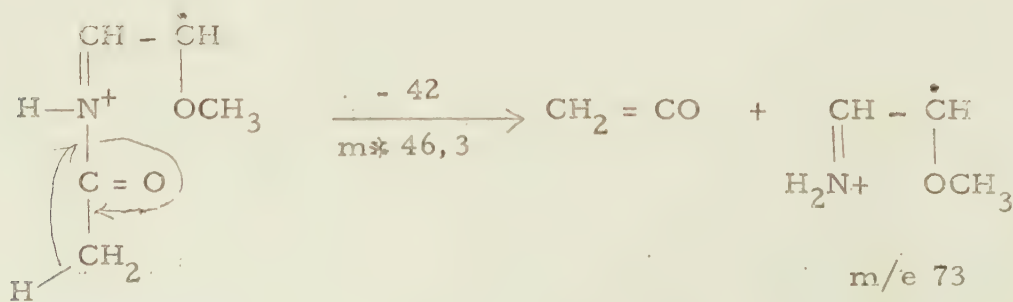
$$F = 163^\circ$$

$$[\alpha]_D + 35^\circ$$

$$[M]_D + 76^\circ$$

Le β -méthyl glycoside, 18, est obtenu cristallisé dans l'acétone/hexane. Il est caractérisé par ses spectres de R.M.N. et de masse, comme étant l'acétamido-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 β -D-ribohexo-pyranoside de méthyle.

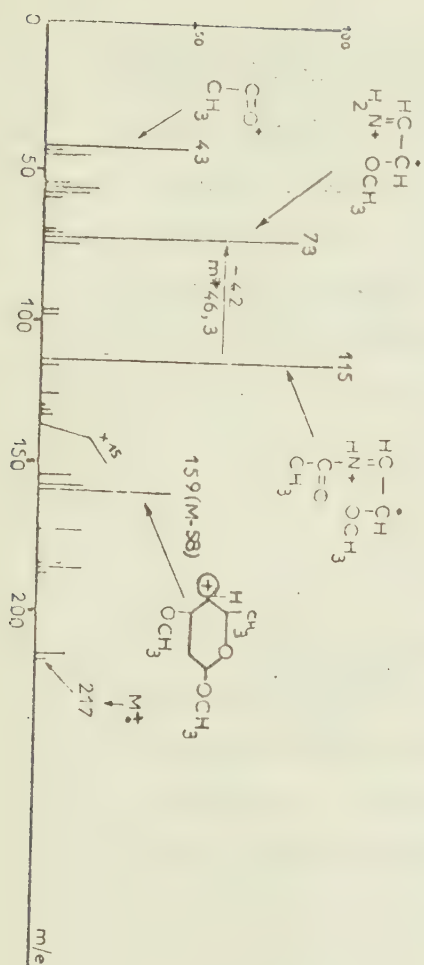
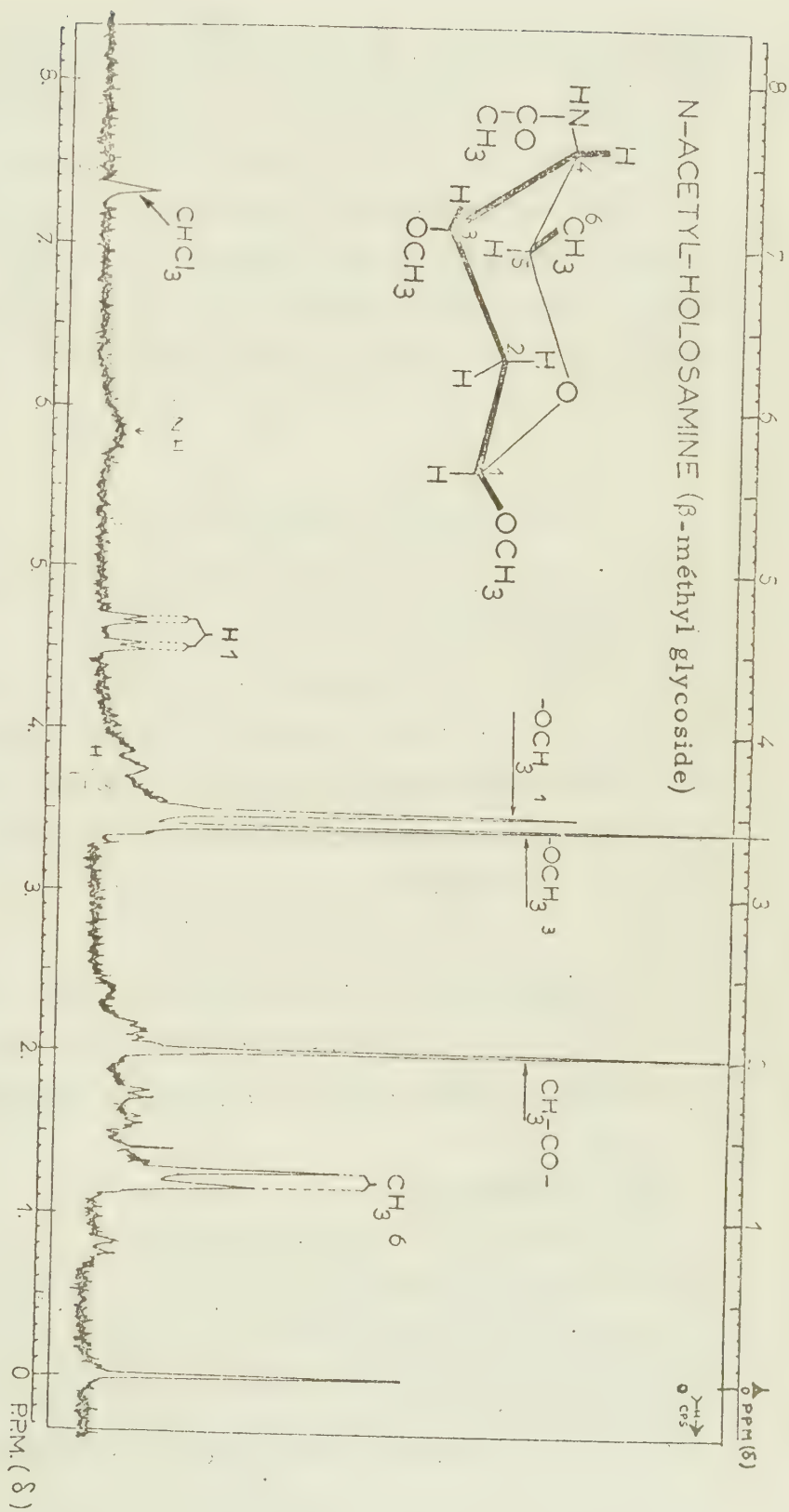
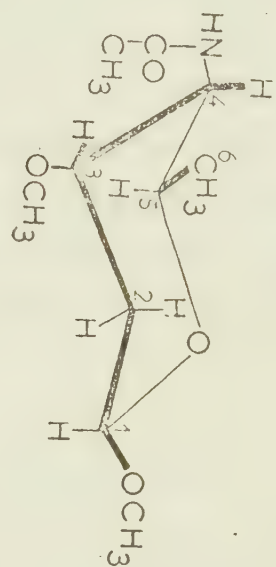
Spectre de masse : confirme la formule brute ($M^+ = 217$). Les principaux ions relevés sont les suivants : m/e 159 (M-58), m/e 115 (pic de base), m/e 73 et m/e 43 :



$$m/e 115 \text{ (pic de base)}$$



$$m/e 43$$

N-ACETYL-HOLOSAMINE (β -methyl glycoside)

Spectre de R. M. N. : le signal du proton 1 (doublet dédoublé) est du même type que celui déjà observé sur le spectre à 220 MHz de la N-acétylholantosine B, 16. Il comporte les signaux suivants : doublet de méthyle secondaire à δ 1,22 (CH_3 -6 ; $J = 6$ Hz), singulet de NAc à δ 2,34 ; singulets de deux méthoxy : OCH_3 en 3 signalé à δ 3,40 et OCH_3 en 1 à δ 3,48. Le signal du proton 1, doublet dédoublé, est centré à δ 4,56 ($J = 10$ et $J' = 2$ Hz). Le multiplet de NH est compris entre δ 5,70 et 6,02.

b) - Synthèse de la D-holosamine -

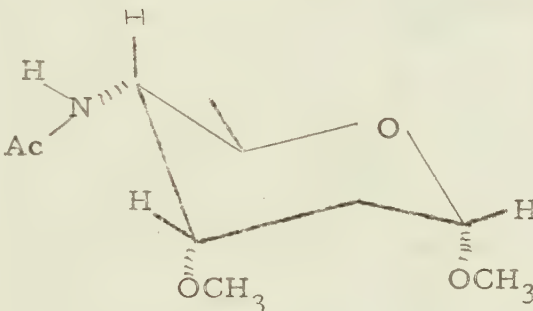
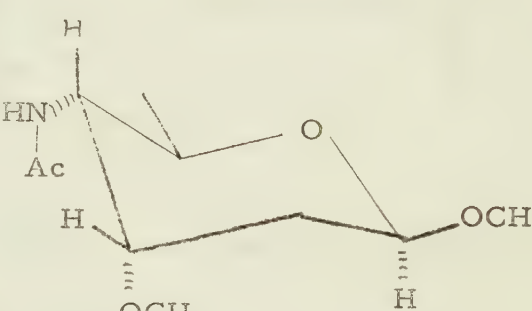
La synthèse de l'acétamido-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 α -D-ribohexopyranoside de méthyle, 19, a été faite en collaboration avec le Docteur GERO et son équipe à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif. Cette synthèse a été décrite dans une courte note (33). Il a été montré que l' α -glycoside, 19, est l'un des composants du mélange des deux anomères obtenu par méthanolyse chlorhydrique de la N-acétylholantosine B, 16, de l'holacurtine et de la mitiphylline (8 et 9). L' α -glycoside, 19, de synthèse, traitée par le méthanol/acide chlorhydrique N, à la température du laboratoire, conduit au mélange des deux anomères α et β , identiques à celui obtenu par méthanolyse chlorhydrique de la N-acétylholantosine B, 16.

c) - Conclusion -

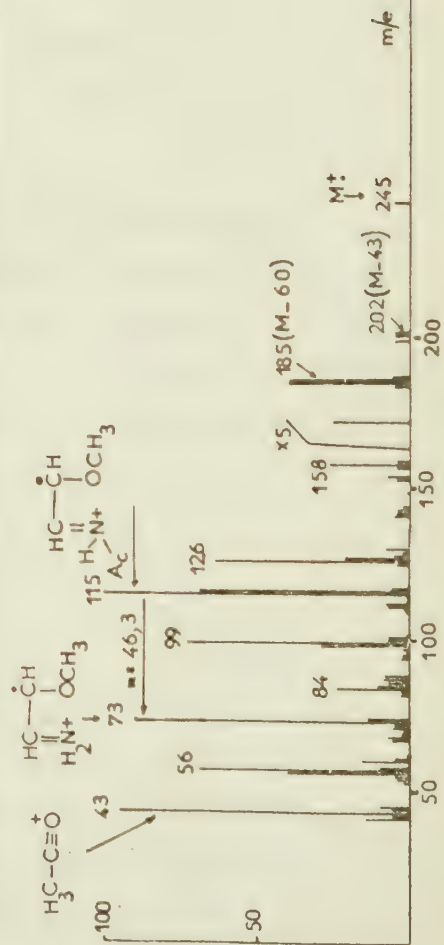
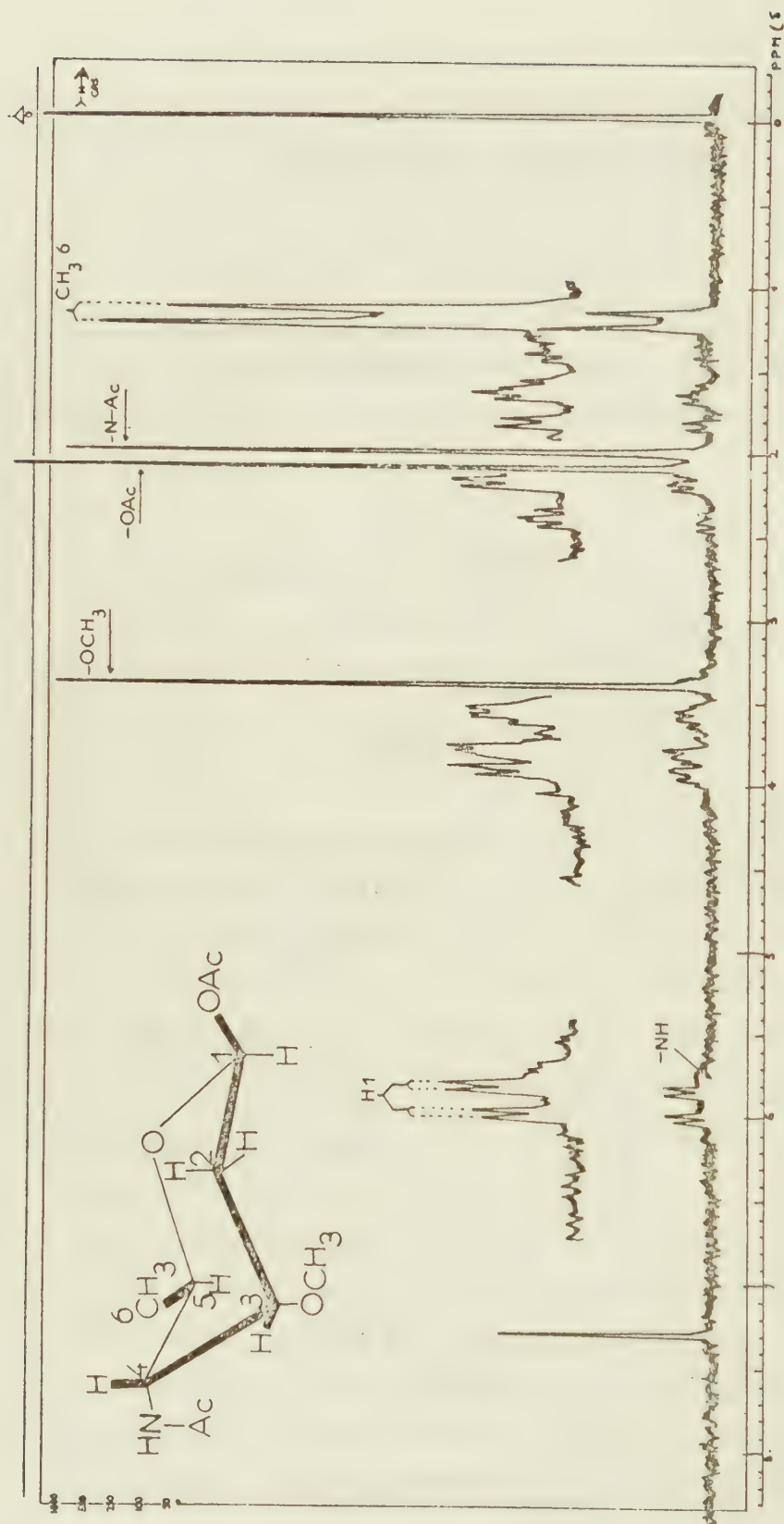
La différence de rotation moléculaire entre le β -D-glycoside, 18, naturel et l' α -glycoside de synthèse, 19, est tout-à-fait en accord avec les données de la littérature pour de tels anomères : $[\text{M}]_{\text{D}} \alpha\text{-}\underline{\text{D}}\text{-glyc.} - [\text{M}]_{\text{D}} \beta\text{-}\underline{\text{D}}\text{-glyc.} = 445^\circ - 76^\circ = + 369^\circ$. La règle de HUDSON indique environ $+ 350^\circ$ pour cette différence de rotation moléculaire (34).

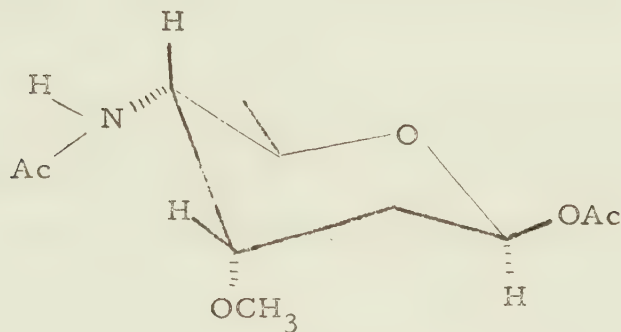
Les constantes physiques et les données spectrales des deux anomères de méthyl-glycosides, 18 et 19, sont consignés dans le tableau IV.

TABLEAU IV

α -Méthyl-glycoside <u>19</u>	β -Méthyl-glycoside <u>18</u>
 $C_{10}H_{19}O_4N = 217,26$ $F = 154-156^\circ$ $[\alpha]_D = +205^\circ$ $[M]_D + 445^\circ$ R. M. N. Masse : $M^+ = 217$, pics à : m/e 159 (M-58), m/e 115 (pic de base), m/e 76, m/e 43	 $C_{10}H_{19}O_4N = 217,26$ $F = 163^\circ$ $[\alpha]_D = +163^\circ$ $[M]_D + 76^\circ$ R. M. N. : <u>d</u>, 1,22 (CH_3-6, $J=6$) <u>s</u>, 2,34 (NAc) <u>s</u>, 3,40 (OCH_3 en 3) <u>s</u>, 3,48 (OCH_3 en 1) <u>Dd</u>, 4,56 (H-1, $J=10$, $J'=2$) <u>m</u>, 5,70-6,02 (NH) Masse : $M^+ = 217$, pics à : m/e 159 (M-58), m/e 115 (pic de base), m/e 73, m/e 43

Les déplacements chimiques sont exprimés en δ ; d = doublet ;
Dd = doublet dédoublé ; s = singulet ; m = multiplet.
Tétraméthylsilane = référence interne = zéro.



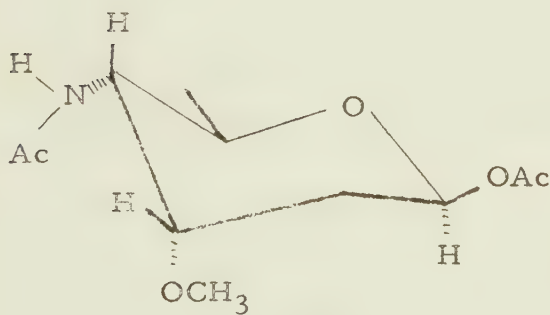
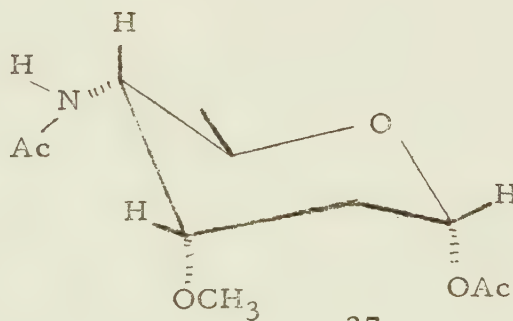
. O,N-diacétyl D-holosamine, 2626

$$C_{11}H_{19}O_5N = 245,27$$

$$F = 145-148^\circ$$

$$[\alpha]_D + 35^\circ \quad [M]_D + 86^\circ$$

L'ouverture acétylante de la N-acétylholtosine B, 16, (voir p. 50) a conduit à une fraction azotée contenant les deux anomères O,N-diacétylés suivants :

26 β 27 α

Par C. M. M. préparative, les deux anomères, 26 et 27, ont pu être séparés et seul 26 est obtenu pur et cristallisé dans l'acétone/hexane. Le dérivé 27 ne sera pas décrit dans cet exposé, sa purification étant en cours.

Spectre de masse de 26 : confirmation de la formule brute ($M^+ = 245$).

Le pic de base est l'ion radicalaire m/e 115 déjà décrit. On observe également un ion important à m/e 43, également déjà décrit.

Spectre de R.M.N. de 26 : il comporte les signaux suivants : H-1, doublet dédoublé, centré à δ 5,91 ($J = 10$ et $J' = 2$ Hz). Doublet du CH_3 -6 à δ 1,20 ($J = 6$ Hz). singulet à δ 2,00 (NAc) ; singulet à δ 2,03 (OAc) et singulet à δ 3,41 (OCH_3).

On remarquera donc que, dans cette O,N-diacétyl D-holosamine, la configuration du groupement OAc correspond à l'anomère β .

PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion non corrigés sont pris en tubes capillaires (sauf exception signalée) avec un appareil W. BÜCHI, d'après TOTTOLI.

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés en solution chloroformique à 5%. d'éthanol en poids (sauf exception signalée), à une concentration de l'ordre de 1 g pour 100 ml, à l'aide du Quick polarimètre électronique Jouan-Roussel.

Les spectres I. R. ont été réalisés sur spectromètre Infracord Perkin-Elmer 257 (produit en suspension dans le Nujol).

Les spectres de R. M. N. ont été réalisés sur des spectrographes Varian : A-60, A-60-A, T-60, HR-220 (en solution dans du chloroforme deutérié, sauf exception signalée); le tétraméthylsilane étant pris comme zéro de référence, les déplacements chimiques exprimés en δ et les constantes de couplage en Hertz.

Les spectres de masse ont été enregistrés sur spectrographes Atlas CH₄ ou AEI MS 9 ; les pourcentages des différents ions sont exprimés en % de Σ_{40} .

Les microanalyses ont été effectuées dans le laboratoire de Microanalyse de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif s/Yvette.

L'isolement des alcaloïdes est effectué par chromatographie (sauf exception signalée) sur alumine d'activité II - III, standardisée selon BROCKMANN.

Les chromatographies en couche mince de gel de silice G, selon STAHL, ont été réalisées avec l'appareil DESAGA à l'aide de "Kieselgel G Merck", neutre ou alcalinisé par de la soude 0,5 N.

La révélation des produits en C. C. M. est faite avec le réactif de Draggendorf et avec l'acide sulfurique pur au 1/2.

Les abréviations utilisées dans le texte sont :

C. C. M. = chromatographie en couche mince

En R. M. N. = d : doublet ; Ed : doublet dédoublé ; Ddd' : doublet dédoublé dédoublé ; s : singulet ; m : multiplet ; Qq : quadruplet dédoublé ; s(d) : singulet légèrement dédoublé (conformères).

EXTRACTION ET ISOLEMENT DES ALCALOÏDES

OBTENTION DES BASES BRUTES TOTALES

30 kg de feuilles d'Holarrhena antidysenterica Wall., en provenance des Indes, sont finement broyées et séchées, puis traitées de la manière suivante :

1°) - Dégraissage -

Un dégraissage préalable à l'éther (60 l.) durant 72 heures permet d'éliminer en grande partie la chlorophylle et les carbures terpéniques. Le résidu est séché, puis alcalinisé par une solution de CO_3Na_2 à 10% (400cm^3 par kg de plante) dans un malaxeur Rainerey.

2°) - Extraction solide-liquide -

Après alcalinisation, la poudre est épuisée dans un Soxhlet par 80 ml de chlorure de méthylène durant 24 heures. Ce chlorure de méthylène est éliminé par évaporation sous pression réduite et le résidu verdâtre repris par 20 l. d'éther.

3°) - Extraction de la solution étherée précédente (20 l.) par une solution aqueuse d'acide sulfamique -

On opère par de petites quantités d'eau sulfamique jusqu'à ce que la réaction de Mayer soit négative. Les fractions aqueuses obtenues renferment les sulfamates hydrosolubles.

4°) - Alcalinisation des sulfamates hydrosolubles précédents -

Les solutions aqueuses sulfamiques, après addition de 10 l. de chlorure de méthylène, sont alcalinisées par 2 kg de soude en pastilles. On extrait par du chlorure de méthylène à plusieurs reprises et les phases méthyléniques totales réunies sont séchées sur 4 kg de sulfate de sodium pur sec, puis évaporées sous pression réduite ; on obtient un résidu vert-brun pesant 300g.

ISOLEMENT DES ALCALOÏDES

L'extrait alcaloïdique brut (300 g) est divisé en deux lots équivalents (150 x 2) et deux méthodes de séparation sont utilisées :

A - Méthode de séparation selon le schéma I de la partie théorique -

Le premier lot (150 g) est dissous dans 10 l. de CH_2Cl_2 /éther dans les proportions de 3/1. On épuise cette solution par de l'eau distillée et la phase aqueuse donne, après évaporation, 14 g de bases "H". La phase organique "II" est épuisée par de l'eau sulfamiqu saturée jusqu'à teste de Mayer négatif. On sépare ainsi les sulfamates d'alcaloïdes "S" hydrosolubles qui sont alcalinisés une première fois "I", par de l'ammoniaque jusqu'à pH 10 et extraits par du chlorure de méthylène ; ceci conduit, après évaporation du solvant, sous pression réduite, à 5,300g de bases "A". Une seconde alcalinisation des sulfamates "S" par 0,5 l. de lessive de soude, suivie d'une seconde extraction par du chlorure de méthylène, fournit 62g de bases "B". Les bases "B" sont distribuées par contre-courant sur l'appareil Quickfit "Steady State", dans une série de 420 tubes ; la technique utilisée est celle de CRAIG qui consiste à faire "courir" la phase inférieure tandis que la phase supérieure reste stationnaire. Cette technique de séparation de substances repose sur la différence de leurs coefficients de partage entre deux phases liquides non miscibles ; le système de solvants utilisés ici est constitué par deux solutions tamponnées à pH 4,9 : CH_2Cl_2 /solution aqueuse d'acétate d'ammonium (5 l. x 2). Un tube sur cinq est contrôlé en C. C. M. Le lot III est constitué par les fractions 1 à 100 (45g), le lot IV comprenant les fractions les plus polaires f 101 à 420 (13,70g).

a) - Traitement du lot "III" -

. Acétylation pyridinée des fractions de 1 à 100 : les 45g sont acétylés en présence de 50cm³ de pyridine et 50cm³ d'anhydride acétique anhydres durant 24 heures à la température du bain-marie bouillant. La double extraction : en milieu acide, puis en milieu alcalin, permet de séparer les alcaloïdes en dérivés neutres et dérivés basiques :

- Dérivés neutres "C" - Il s'agit d'alcaloïdes comportants initialement des fonctions amines primaires ou secondaires ou imines. Le mélange réactionnel (acétylation pyridinée des fractions 1-100) est dilué par 400cm³ d'eau et extrait par de l'éther. La solution étherée est lavée jusqu'à neutralité, puis alcalinisée par de l'ammoniaque. Après évaporation sous pression réduite, cet éther laisse un résidu pesant 54g qui constitue les dérivés neutres "C".

- Dérivés basiques "D" - Ce sont des alcaloïdes demeurant basiques après acétylation, c'est-à-dire comportant initialement au moins une fonction amine tertiaire. Les phases aqueuses précédentes sont alcalinisées par de la lessive de soude, puis extraites de manière habituelle. L'évaporation de l'éther laisse un résidu de dérivés basiques "D" (3g).

. Chromatographie des dérivés neutres "C" : Les 54g sont dissous dans 1,5 l. de benzène et chromatographiés sur 1,6 kg d'alumine (fraction de 1,5 l.). La fraction 2, élue au benzène, fournit, après évaporation, 1,83 g de résidu qui, par cristallisation dans l'hexane/acétone, donne un premier jet de 700mg d'O-acétylanhydroholantogénine. Les fractions 18-26, élues au CH₂Cl₂/EtOH 995/5, fournissent après évaporation 1,43g de résidu qui par cristallisation dans le méthanol laisse un premier jet de 277mg de O, O', N-triacétylkurcholine.

b) - Traitement du lot IV* -

. La chromatographie directe sur 510g d'alumine hydratée à 6% (fractions de 500cm³) du lot IV* (13,7g) conduit aux résultats suivants : les fractions 7-10 éluées au C₆H₆/CH₂Cl₂ 9/1 fournissent 1,27g de conessine. Les fractions 42-50 éluées au CH₂Cl₂/EtOH 95/5 donnent 1g du dérivé O, O', N-triacétylé de la kurchalimine.

. Acétylation pyridinée de "E": Toutes les autres fractions "E" sont regroupées puis acétylées à 100° durant 24 heures en présence de 10cm³ de pyridine et 10cm³ d'anhydride acétique anhydres. L'extraction acide "5" par de l'éther fournit 12,29g de produits neutres "F". Les phases aqueuses sont ensuite alcalinisées par de la lessive de soude (50cm³), puis extraites par du chlorure de méthylène "6" et donnent 2,53g de bases "G".

. Chromatographie des produits neutres "F": Les dérivés neutres (12,29g) sont chromatographiés sur 390g d'alumine (fractions de 400cm³). Les fractions 2-10 (3g) éluées au benzène/CH₂Cl₂ 1/1 contiennent la kurchalimine, 8. Les fractions 13-16 éluées au CH₂Cl₂/EtOH 1/1 fournissent, après évaporation, 2,48g de résidu rechromatographié sur 75g d'alumine ; les fractions 2-4, éluées au benzène, fournissent 277mg de résidu qui, par cristallisation de l'éther, donne un premier jet de 67mg de l'alcaloïde X₄₆ dont l'étude est en cours mais que nous savons être une cétone ester. Les fractions 15-17, éluées au C₆H₆/CH₂Cl₂ 1/1 (94mg) renferment l'alcaloïde X₄₉ (acide ester, étude en cours). Les fractions 26-39 (300mg), éluées au CH₂Cl₂/éthanol 9/1, renferment X₄₈ ou kurchilinine non étudiée dans cet exposé.

B - Méthode de séparation selon le schéma II° de la partie théorique -

On dissout le deuxième lot de bases brutes (150g) dans 150cm³ de pyridine en présence de 150cm³ d'anhydride acétique anhydres ; après 24 heures avec agitation à la température du laboratoire, l'excès de réactif est détruit par addition ménagée d'eau. L'élévation de la température est maintenue inférieure à 35° par addition de glace. Finalement, le mélange réactionnel est dilué par 2 l. d'eau. L'extraction par de l'éther en milieu acide "I" fournit, après évaporation du solvant étheré, 150g d'extraits neutres qui constituent les produits "M". La solution eau acétique "II" est alcalinisée par de l'ammoniaque jusqu'à pH 10, puis extraite par de l'éther ; l'évaporation de ce dernier fournit 10,6g de bases "N" qui ne seront pas étudiées dans ce texte.

Chromatographie des produits neutres "M" :

1) - Ils sont dissous dans du benzène et sont chromatographiés sur 2,5 kg d'alumine (fractions de 500cm³). Les résultats de cette opération sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Eluants	Fractions	Poids en g	Solvants	Nature des produits	N°
Benzène	1	2			
-	2	43			
-	3	12			
-	4	3			
-	5-8	8			
-	9-10	2,5			
-	11-13	3			
-	14-18	1,8			
-	19-23	1			
-	24-27	0,7			

.../

C ₆ H ₆ /éther	28-49	13,5	Acétone	N-acétylholantosine B	X ₅₀
Ether/EtOH 98/2	50-51	4	Acétone	N-acétylholantosine C	X ₅₁
-	52-57	10,3			
-	58-65	20			
Ether/EtOH 9/1	66-67	6,3			
EtOH	68-70	10			
EtOH/NH ₄ OH 995/5	71	10			

2) - Les eaux-mères de cristallisation des fractions 28-49, plus celles des fractions 50-51 sont regroupées avec les fractions 52-65, soit au total 40g de produits. Ceux-ci sont dissous dans 150cm³ de benzène et chromatographiés sur 1,35 kg d'alumine hydratée à 6% d'eau (fractions de 1,4 l.). Les résultats de cette opération sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Eluants	fraction	Poids en g	solvant	nature des produits	N°
Benzène	1	0,115			
-	2-6	9,28			
C ₆ H ₆ /éther 9/1	7-10 11-17	1,450 6,78	Acétone	N-acétylholantosine B	X ₅₀
Benzène/éther 8/2	18-22	1,730	Acétone	N-acétylholantosine C	X ₅₁
- 1/1	23-30	4,54			
Ether	31-33	5,50	Acétone /hexane	N-acétylholantosine D	X ₅₃
Ether/EtOH 996/4	34-37	0,690			
				.../	

Ether/EtOH 95/5	38-43	0,160			
Ether/EtOH 90/10	44-46	5,50	Acétone	N-acétylholantösine A	X ₅₂
EtOH	47-48	0,800			

DETERMINATION DES STRUCTURES

1 Dihydroxy-2 α , 16 α méthylamino-3 β prégnadiène-5, 17(20) trans ou kurchalimine

Cet alcaloïdes est isolé par chromatographie directe du lot "IV" (schéma I, Partie Théorique) sur alumine hydratée à 6% d'eau. Il est contenu dans les fractions 42-50 éluées au CH₂Cl₂/EtOH 95/5.

Cristallisé dans le méthanol, il présente les caractéristiques suivantes :

$$F = 258^{\circ} \quad [\alpha]_D - 94^{\circ} \text{ (pyridine, } c = 0,5 \text{)}$$

Analyse : C₂₂H₃₅O₂N (345,51)

calc. %	C 76,47	H 10,21	N 4,05
tr. %	76,21	10,12	4,21

I. R. : ν (NH) et ν (OH): 3310 et 3320cm⁻¹.

R. M. N. : CH_3 -18, $\underline{s}$ à 0,75 ; CH_3 -19, $\underline{s}$ à 1,03 ; CH_3 -21, $\underline{d}$ (1,75 et 1,86 ; J = 7) ; NCH_3 , $\underline{s}$ à 2,46 ; protons oléfiniques, $\underline{m}$ centré à 5,30 ; H en 16, $\underline{m}$ centré à 4,82.

Spectre de masse : m/e 345 = M^+ (6,5%) ; m/e 44 (12%) ; m/e 86 (pic de base 66%) ; m/e 286 (1%) ; m/e 301 (2%).

2 Dihydroxy-2 α , 16 α méthylamino-3 β prégnane-5 α

La kurchalimine, 1 (45mg), est dissoute dans 7cm³ d'acide acétique en présence de 30mg de platine d'Adams et agitée sous atmosphère d'hydrogène durant 18 heures. Le catalyseur est éliminé par filtration et le filtrat dilué par 10cm³ d'eau. On extrait par 30cm³ de chlorure de méthylène, après alcalinisation par de l'ammoniaque. La solution méthylénique est lavée à l'eau jusqu'à neutralité, puis séchée sur SO_4Na_2 pur sec ; par évaporation sous pression réduite, on obtient un résidu blanc cristallin pesant 47mg qui est cristallisé dans le méthanol : 1^{er} jet = 27mg. La tétrahydrokurchalimine, 2, est caractérisée par les données spectrales suivantes :

$$F = 239-240^\circ \quad \alpha_D - 47^\circ (\text{MeOH}, c = 1)$$

R. M. N. : CH_3 -18, $\underline{s}$ à 0,58 ; CH_3 -19, $\underline{s}$ à 0,81 ; NCH_3 , $\underline{s}$ à 2,45 ; 2 OH et 1 NH (3 protons) disparaissant à la deutériation, $\underline{s}$ large à 1,90.

Spectre de masse : $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{O}_2\text{N}$ (349,54) : m/e 349 = M^+ (5%) ; m/e 334 (M-15, traces) ; m/e 316 (M-15-18, traces) ; m/e 56 (pic de base, 32%) ; m/e 86 (3%) ; m/e 43 (8,5%).

3 Diacétoxy-2 α , 16 α méthylacétamido-3 β prégnadiène-5, 17(20) trans

La kurchalimine, 1 (82mg) est dissoute dans 1cm³ de pyridine en présence de 1cm³ d'anhydride acétique. On laisse une nuit avec agitation à la température du laboratoire. La solution est diluée par addition de 50cm³ d'eau, puis extraite par de l'éther selon la technique courante. On obtient, après évaporation de l'éther, 110mg de résidu ; la cristallisation de celui-ci dans l'acétone donne un premier jet de 45mg : F = 236° ; $[\alpha]_D$ - 109°.

I.R. : γ (OAc) 1735, 1250 et 1025cm⁻¹ ; γ (NCH₃Ac) 1640cm⁻¹.

Analyse : C₂₈H₄₁O₅N (471,62)

calc. %	C 71,30	H 8,76	N 2,97
tr. %	71,14	8,63	2,97

Spectre de masse : m/e 471 = M⁺ (0,5%) ; m/e 44 (4%) ; m/e 56 (4%) ; m/e 74 (4,5%) ; m/e 296 (1,5%) ; m/e 336 (3,5%) ; m/e 354 (M-60-15-42, 2%) ; m/e 396 (M-60-15, 2%) ; m/e 411 (M-60, 1%).

R. M. N. : CH₃-18, s à 0,77 ; CH₃-19, s à 1,10 ; CH₃-21, d centré à 1,58 (J = 7) ; 2 OAc, s à 1,98 et 2,05 ; NAc, s(d) à 2,08 (J = 4) ; NCH₃, s (d) à 2,8 (J = 3) ; deux protons oléfiniques, m vers 5,40 ; H en 16, m vers 5,75.

4 Dihydroxy-2 α , 16 α méthylamino-3 β prégnène-5 ou kurcholine

La triacétylkurcholine, 5 (350mg), est saponifiée à 170° en tube scellé durant 18 heures, par une solution de pastilles de soude (4g ,

dans 5cm³ d'eau et 5cm³ d'éthanol à 95°). On extrait par de l'éther selon la technique courante et obtient, par cristallisation dans le méthanol, 234mg de kurcholine base, 4.

$$F = 221^{\circ} \quad [\alpha]_D - 97^{\circ} \quad (\text{MeOH}, c = 1)$$

Analyse : C₂₂H₃₇O₂N (347, 52)

calc. %	C 76,03	H 10,73	N 4,03
tr. %	76,09	10,60	4,14

Spectre de masse : m/e 347 = M⁺ (8%) ; m/e 44 (7%) ; m/e 86 (pic de base, 48%) ; m/e 260 (M-44-28, traces) ; m/e 288 (M-44-15, 1%) ; m/e 303 (M-44, 3%).

R. M. N. (pyridine) : CH₃-18, s à 0,64 ; CH₃-19, s à 1,07 ; NCH₃, s à 2,48 ; H en 6, m entre 5,40 et 5,50.

5 Diacétoxy-2α, 16α N-méthylacétamido-3β prégnène-5

Ce produit n'a pas été décrit, mais il a été immédiatement saponifié pour obtenir la kurcholine base.

6 Dihydroxy-2α, 16α diméthylamino-3β prégnène-5

La kurcholine, 4 (30mg) est chauffée au bain-marie bouillant dans 2cm³ d'acide formique à 98% et 2cm³ de formaldéhyde à 30%. Après 4 heures, on laisse refroidir et alcalinise par de l'ammoniaque

en présence de glace. L'extraction par de l'éther selon la technique courante fournit 47mg de résidu présentant, dans son spectre I. R. , les bandes d'absorption d'un ester formique. La saponification à la température ambiante, durant 1 h. , par 2cm³ de potasse éthanolique N, fournit 28mg de 6 qui est sublimé à 200° sous vide poussé (0,02mm/Hg) et présente les caractéristiques physiques et spectrales suivantes :

$$F \quad [\alpha]_D - 40^\circ$$

Analyse : C₂₃H₃₉O₂N (361,55)

calc. %	C 76,40	H 10,87	N 3,87
tr. %	76,88	10,24	3,99

Spectre de masse : m/e 361 = M⁺ (7%) ; m/e 43 (5,5%) ; m/e 58 (pic de base, 12%) ; m/e 100 (9%) ; m/e 302 (M-44-15, 1%) ; m/e 317 (M-44, 2,5%).

R. M. N. : CH₃-18, s à 0,62 ; CH₃-19, s à 1,03 ; N(CH₃)₂, s à 2,30 ; H-6, m vers 5,40 ; H-3 axial, m vers 3,70.

7 Dihydroxy-2α,16α méthylamino-3β prégnane-5α

La kurcholine, 4 (20mg), en solution dans 7cm³ d'acide acétique et en présence de 15mg de platine d'Adams, est agitée sous atmosphère d'hydrogène durant 24 heures. Après filtration et dilution par de l'eau, on alcalinise par de l'ammoniaque et extrait par de l'éther ; l'extrat étheré est évaporé sous pression réduite et l'on obtient un résidu cristallin pesant 16mg. La dihydrokurcholine, 7, obtenue est identique (Pt de fusion, $[\alpha]_D$, R. M. N. , masse) à la tétrahydrokurchalimine, 2, déjà décrite.

8 Dihydroxy-2 α , 20 α méthylamino-3 β prégnadiène-5, 16 ou
kurchalinine

La kurchalinine, 8, est obtenue par chromatographie des fractions neutres "F" (schéma I, Partie Théorique) après acétylation pyridinée, sous forme de dérivé O, O', N-triacétylés. La triacétylkurchalinine ainsi obtenue (50mg) est immédiatement saponifiée à 170° en tube scellé dans 3cm³ de NaOH 10 N, selon la technique utilisée pour obtenir la kurcholine, 4. On extrait 44mg de résidu cristallisant de l'éther ; le premier jet de 33mg est purifié par sublimation à 200° sous vide poussé (0,02mm/Hg) et donne :

F = 196-197°

$[\alpha]_D - 63^\circ$

Analyse : C₂₂H₃₅O₂N (345, 51)

calc. %	C 76,47	H 10,21	N 4,05
tr. %	76,70	10,35	4,15

Spectre de masse : m/e 345 = M⁺ (6%) ; m/e 44 (9%) ; m/e 86 (pic de base, 29%) ; m/e 286 (M-44-15, 1%) ; m/e 301 (M-44, 2%).

R. M. N. : CH₃-18, s à 0,92 ; CH₃-19, s à 1,06 ; CH₃-21, d à 1,33 (J = 6,5) ; NCH₃, s à 2,45 ; H en 6, m entre 5,30 et 5,50 ; H en 16, m entre 5,60 et 5,75 ; 2 OH et NH (3 protons) disparaissant à la deutériation, s large à 2,08.

9 Hydroxy-2 α méthylamino-3 β prégnane-5 α

La kurchalinine, 8 (45mg), en solution dans 5cm³ d'acide acétique en présence de 30mg de charbon palladié, est agitée sous atmosphère d'hydrogène durant 24 heures. Après élimination du catalyseur par filtration, on dilue avec 15cm³ d'eau, puis alcalinise par de l'ammoniaque et extrait au chlorure de méthylène, qui, par évaporation sous pression réduite, fournit un résidu présentant 4 taches en C. C. M. Par C. C. M. préparative de ce mélange, on isole 4mg de 9 qui comporte dans son spectre de masse, un pic de base à m/e 96, déjà vu dans le cas de la tétrahydrokurchalimine, 2.

10 (20S)-prégnane-5 α hydroxy-3 β diépoxy-18, 20, 14 β , 20 ou
hydroxy-3 β diépoxy-18, 20 β , 14 β , 20 α ou anhydroholantogénine

L'O-acétylanhydroholantogénine, 11 (150mg), est agitée à la température du laboratoire dans 5cm³ de potasse éthanolique N. . Après 1 heure, on dilue avec 50cm³ d'eau et extrait par du chlorure de méthylène. Après lavage, séchage et évaporation du solvant organique sous pression réduite, on obtient un résidu pesant 122mg qui cristallise de l'acétone et fournit un premier jet de 48mg :

$$F = 179^{\circ}$$

$$[\alpha]_D - 38^{\circ}$$

$$[M]_D - 126^{\circ}$$

Analyse : C₂₁H₃₂O₃ (332, 47)

calc. %	C 75, 86	H 9, 70	O 14, 44
tr. %	75, 71	9, 51	14, 58

Spectre de masse : M^+ à m/e 332 (1%), pics à m/e 304 (M-18, 1%), 272 (M-60, 3,5%), 152 (5%), 109 (4,5%), 96 (pic de base, 22%).

R. M. N. : CH_3 -19, s à 0,82 ; CH_3 -21, s à 1,40 ; système AB, 3,66 et 4,05 ($J = 8$, CH_2 -18), H en 3 axial, m, à 3,35 et 3,80.

11 (20S)-prégnane-5 α acétoxy-3 β diépoxy-18,20 ; 14 β ,20 ou acétoxy-3 β diépoxy-18,20 β ; 14 β ,20 α ou O-acétylanhydroholantogénine

(Pour désigner la stéréochimie du carbone 20, on peut adopter la convention de CAHN, INGOLD et PRELOG, utilisant les symboles R et S (35))

L'O-acétylanhydroholantogénine est isolée par chromatographie sur alumine des fractions neutres après acétylation pyridinée des dérivés "C" (schéma I, Partie Théorique). Elle est obtenue cristallisée dans l'hexane et présente les constantes et données spectrales suivantes :

$$F = 152^\circ \quad [\alpha]_D - 44^\circ \quad [M]_D - 154^\circ$$

Analyse : $C_{23}H_{34}O_4$ (374,50)

calc. %	C 73,76	H 9,15	O 17,09
tr. %	73,99	9,06	17,41

I. R. ν (OAc) 1735, 1250 et 1025 cm^{-1} .

R. M. N. : CH_3 -19, s à 0,83 ; CH_3 -21, s à 1,40 ; OAc en 3, s à 2,02 ; CH_2 -18, système AB, à 3,68 et 4,07 ($J = 8$) ; H en 3 axial, m entre 4,40 - 4,90.

Spectre de masse : $M^+ = 374$ (traces), pics à m/e 314 (M-60, 2,5%) ; 254 (M-60-60, traces) ; 152 (3,5%) ; 109 (3,5%) ; 96 (pic de base, 14%).

14 Trihydroxy-3 β , 14 β , 20 époxy-18, 20 prégnane-5 α ou holantogénine

55mg de 10 sont dissous dans 3cm³ de dioxanne. On ajoute 1cm³ d'eau distillée et chauffe à reflux pendant 2 heures. On observe en C. C. M. (plaque neutre de silice, CH₂Cl₂/MeOH 9/1) un équilibre dans les proportions 50/50 (R. M. N.) entre 10 et 14. Le même résultat est obtenu dans l'éthanol aqueux. La proportion de 14 augmente lorsque l'on fait cristalliser le mélange dans le dioxanne aqueux (2cm³ de dioxanne pour 1cm³ d'eau). On essore un premier jet de 30mg de 14 :

$$F = 125^\circ \text{ (bloc Köfler)} \quad [\alpha]_D - 31^\circ \quad [M]_D - 108^\circ$$

I. R. : $\nu(\text{OH})$ 3450 et 3150cm⁻¹.

Analyse : C₂₁H₃₄O₄ (350,48)

calc. %	C 71,96	H 9,78	O 18,26
tr. %	72,02	9,82	18,16

R. M. N. : CH₃-19, s à 0,75 ; CH₃-21, s à 1,40 ; CH₂-18, système AB à 3,53 et 4,16 (J = 9) ; H en 3 axial, m entre 3,30 et 3,80.

Spectre de masse : identique à celui de l'anhydroholantogénine, 10.

15 N-acétylholantosine A

Elle est obtenue à partir de la seconde chromatographie des produits neutres "M" sur alumine hydratée à 6% d'eau (éluee dans les fractions 44-46 : éther/EtOH 9/1). Obtenue cristallisée dans l'acétone, elle est caractérisée par les données ci-dessous :

$$F = 260-261^{\circ} \text{ (bloc Köfler)} \quad [\alpha]_D - 28^{\circ} \quad [M]_D - 150^{\circ}$$

Analyse : $C_{30}H_{49}O_7N$ (535, 70)

calc. %	C 65,07	H 9,28	O 23,12	N 2,53
tr. %	65,33	9,01	23,25	2,41

I. R. : ν (NHCOCH₃), 3320, 1650 et 1540cm⁻¹.

R. M. N. : CH₃-19, s à 0,75 ; CH₃-6', d à 1,19 (J = 5) ; CH₃-21, s à 1,40 ; NAc, s à 2,00 ; OCH₃, s à 3,40 ; CH₂-18, système AB à 3,58 et 4,16 (J = 9) ; H axial en 1', Dd à 4,78 (J = 9,5 et J' = 2) ; protons 3, 3', 4' et 5', m entre 3,30 et 4,20 ; NH amide, m vers 5,75.

Spectre de masse : M⁺ absent, pics à m/e 517 (M-18, traces), 457 (M-18-60, traces), 359 (0,5%) , 315 (0,5%), 115 (pic de base, 60%), 96 (2%).

16 N-acétylholantosine B

Elle est isolée par chromatographie sur alumine des dérivés neutres "M" après acétylation pyridinée. Contenue dans les fractions 28-49, éluées au benzène/éther 1/1, elle cristallise de l'acétone et présente les caractéristiques suivantes :

$$F > 290^{\circ} \quad [\alpha]_D - 29^{\circ} \quad [M]_D - 149^{\circ}$$

Analyse : $C_{30}H_{47}O_6N$ (517,68)

calc. %	C 69,60	H 9,15	N 2,71	O 18,54
tr. %	69,53	9,02	2,59	18,51

I. R. : ν (NHAc), 3360, 1680, 1560 cm^{-1} ; spectre différent de celui de la N-acétylholantosine A, 15.

Spectre de masse : M^+ = 517, pics à m/e 457 (M-60, traces), 359 (0,5%), 315 (1%), 255 (1%), 115 (pic de base, 42%), 96 (4%).

R. M. N. (A 60) : CH_3 -19, s à 0,82 ; CH_3 -21, s à 1,40 ; CH_2 -18, système AB à 3,66 - 4,05 ($J = 8$) ; OCH_3 , s à 3,40 ; NAc, s à 2,00 ; CH_3 -6', d à 1,19 ($J = 5$) ; H axial en 1', Dd à 4,78 ($J = 10$, $J' = 2$).

(220MHz) : 1°) - C_6H_6 - H en 3' équatorial, m à 3,14 ; H en 5' axial, Qd à 3,75 ($J_{4',5'} = 10$, $J_{5',\text{CH}_3} = 6$) ; H en 3 axial, m à 3,65 - 3,88 ; CH_2 -18, système AB à 3,56 et 4,06 ($J = 8$) ; H en 4', Ddd' à 4,08 ($J = 10$, $J' = 3$) ; H en 1', Dd à 5,04 ($J = 9,5$, $J' = 2,00$).

2°) - CDCl_3 - H en 4', Ddd' à 3,84 ; H en 1', Dd à 4,80 ; CH_2 -18, système AB à 3,67 et 4,04.

Interconversions entre la N-acétylholantosine A, 15, et la N-holantosine B, 16

1°) - La N-acétylholantosine A, 15 (40mg), est sublimée à 200° sous 0,02mm/Hg. Le produit cristallisé obtenu est identique (F, I. R., masse, R. M. N.) à la N-acétylholantosine B, 16.

2°) - On dissout 17mg de N-acétylholantosine B, 16, dans 3cm³ d'éthanol à 95°, puis on ajoute 1cm³ d'eau. Cette solution donne, en C. C. M. (système de solvant : CH₂Cl₂/MeOH 9/1) une seule tache. On chauffe au bain-marie, une seconde tache, plus polaire, devient peu à peu visible en C. C. M. et prédomine au bout d'une heure. On laisse alors cristalliser dans l'éthanol aqueux. Le produit est identique (C. C. M., I. R., masse, R. M. N.) à la N-acétylholantosine A, 16.

17 Holantosine B

100mg de N-acétylholantosine B, 16, sont mis en solution dans 4cm³ d'éthanol à 95° en présence de 4cm³ de NaOH 10 N (solution aqueuse de pastilles de soude) et la solution est chauffée en tube scellé à 170° durant 16 heures. On laisse refroidir et dilue avec 20cm³ d'eau, puis extrait par de l'éther, qui, après évaporation sous pression réduite, fournit 89mg de résidu que l'on purifie par C. C. M. préparative ; on obtient 68mg de 17, pur en C. C. M., mais ne cristallisant pas dans les solvants usuels.

$$[\alpha]_D - 31^\circ$$

$$[M]_D - 147^\circ$$

Spectre de masse : C₂₈H₄₅O₅N (475,65) : M⁺ = 475, pics à m/e 43 (4,5%), 73 (pic de base, 25%), 255 (1,5%), 257 (traces), 315 (3%), 341 (traces), 359 (traces), 371 (traces), 403 (traces).

R. M. N. : CH₃-19, s à 0,82 ; CH₃-21, s à 1,24 ; CH₂-18, système AB à 3,66 et 4,05 (J = 8) ; CH₃-6', d à 1,25 (J = 6) ; OCH₃, s à 3,41 ; H axial en 1, Dd centré à 4,80 (J = 10, J' = 2) ; H en 3, 3', 4', 5', m entre 3,42 et 3,75.

Méthanolyse chlorhydrique de la N-acétylholantosine B, 16

500mg de 16 sont agités à la température du laboratoire dans 10cm³ de méthanol chlorhydrique N, durant 18 heures. La solution est concentrée à 5cm³ sans dépasser 45°. On dilue par de l'eau et extrait par de l'éther 300mg de produit non azoté, donnant plusieurs taches en C. C. M. La phase aqueuse contenant la fraction azotée est alcalinisée par de l'ammoniaque et concentrée à sec ; on reprend le résidu plusieurs fois au benzène à chaud qui est éliminé par évaporation sous pression réduite. On obtient une fraction azotée pesant 163mg.

18 Acétamido-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2,4,6 β-D-ribohexopyranoside de méthyle ou β-méthylglycoside

La fraction azotée (163mg) ci-dessus présente, en C. C. M., deux taches principales dont la plus polaire correspond au β-méthylglycoside, 18. Par C. C. M. préparative de ce mélange (CH₂Cl₂/méthanol 95/5), 18, a pu être obtenu pur et cristallisé dans l'hexane : premier jet : 22mg. Il présente les données suivantes :

$$F = 159^{\circ} - 163^{\circ} \quad [\alpha]_D + 35^{\circ} \quad [\eta]_D + 76^{\circ}$$

Spectre de masse : C₁₀H₁₉O₄N (217,26) : M⁺ = 217, pics à m/e 186 (M-31, traces), 159 (M-58, 1%), 126 (2%), 115 (pic de base, 27%), 73 (23%), 43 (13%).

R. M. N. : CH₃-6, d à 1,22 (J = 6) ; NAc, s à 2,34 ; OCH₃ en 3, s à 3,40 ; OCH₃ en 1, s à 3,48 ; H en 3, 4 et 5, m à 3,30-4,10 ; H axial en 1, Dd à 4,56 (J = 10, J' = 2) ; NH de l'amide, m à 5,70-6,02.

19 Acétamido-4 O-méthyl-3 tridésoxy-2, 4, 6 α -D-ribohexopyrano-
side de méthyle ou α -méthylglycoside

L' α -méthylglycoside, 19, est obtenu par C. C. M. préparative de la fraction azotée provenant de la méthanolyse chlorhydrique de la N-acétylholantosine B, 16. Synthétisé en collaboration avec le Docteur GERO et son équipe, il présente les constantes physiques ci-dessous :

$$F = 154-156^{\circ} \quad [\alpha]_D + 205^{\circ} \quad [M]_D + 445^{\circ}$$

Spectre de masse : $C_{10}H_{19}O_4N$ (217,26) : M^+ = 217, pics à m/e 43 (12%) ; 73 (24%) ; 115 (pic de base, 26%) ; 126 (4%) ; 154 (traces) ; 158 (1%) ; 159 (traces).

20 Ether méthylique du (5 α)-prégnène-14 diol-3 β , 18 one-20 (18 $\rightarrow$ 20
cyclohémicétal)

1) - La fraction non azotée résultant de la méthanolyse chlorhydrique de la N-acétylholantosine B, 16, (300mg) est dissoute dans 10cm³ de méthanol auquel on ajoute V gouttes d'HCl et laisse cristalliser à 0°. On obtient 15mg de 20 qui est caractérisé par les données suivantes :

$$F = 140^{\circ}$$

I. R. : ν (OH 3300cm⁻¹ ; ν (C=C) 1650cm⁻¹.

Spectre de masse : $C_{22}H_{34}O_3$ (346,49) : M^+ = 346 (5%), pics à m/e 316 (M-30, 11%), 301 (M-30-15, 4,5%), 272 (M-30-15-29, 5%), 43 (5%), 59 (4%), 91 (3,5%).

R. M. N. : CH_3 -19, s à 0,77 ; CH_3 -21, s à 1,33 ; OCH_3 , s à 3,18 ; CH_2 -18, système AB à 3,50 et 3,77 ; H en 15, m à 5,05 ; H axial en 3, m à 3,50-3,85.

2) - L'anhydroholantogénine, 11 (172mg), est dissoute dans 5cm^3 de méthanol auquel est additionné II gouttes d'HCl, on laisse cristalliser et essore 20mg de produit identique à 20 (I. R. , masse, R. M. N.).

21 Diacétoxy-3 β , 18 (5 α)-prégnène-14 one-20

1) - A partir de l'anhydroholantogénine, 10 - On dissout 100mg d'anhydroholantogénine, 10, dans 10cm^3 d'anhydride acétique anhydre en présence de 20mg d'acide p-toluène sulfonique. Après 24 heures avec agitation à la température du laboratoire, le mélange réactionnel est dilué avec de l'eau, puis extrait par de l'éther, lequel est lavé par de l'eau ammoniacale, par de l'eau ensuite, séché et évaporé. On obtient un résidu pesant 120mg qui est purifié par filtration sur 3,6g de florisil. L'élution à l'éther fournit 100mg de laque incolore et pure en C. C. M. Le dérivé 21 n'a pu être obtenu cristallisé dans les solvants usuels.

$$[\alpha]_D + 19^\circ$$

I. R. : ν (C=O) 1710cm^{-1} ; ν (C=C) 1650cm^{-1} ; ν (OAc) 1745, 1735, 1250 et 1030cm^{-1} .

Spectre de masse : $C_{25}H_{36}O_5$ (416,54) : $M^+ = 416$, pics à m/e 356 (M-60, 10,5%), 313 (M-60-43, 1,5%), 253 (M-60-43-60, 1,5%), pics métastables à : m^* 304,6 (416 $\rightarrow$ 356), 275,5 (356 $\rightarrow$ 313), 204,5 (313 $\rightarrow$ 253), pics à m/e 343 (M-73, 2,5%), 283 (M-73-60, 1,5%), m^* 233,5 (343 $\rightarrow$ 283), pic à m/e 43 (pic de base, 15%).

R. M. N. : CH_3 -19, $\underline{s}$ à 0,82 ; OAc en 18, $\underline{s}$ à 1,97 ; OAc en 3, $\underline{s}$ à 2,00 ; $COCH_3$, $\underline{s}$ à 2,20 ; CH_2OAc en 18, $\underline{d}$ à 4,00 ; H en 3 axial, $\underline{m}$ à 4,67 ; H en 15, $\underline{m}$ à 5,27.

2) - A partir de la N-acétylholantosine B, 16 - 100mg de 16 sont traités par 7cm³ d'anhydride acétique en présence de 20mg d'acide p-toluène sulfonique. Après 24 heures avec agitation, on extrait selon la technique précédente. L'extrait étheré après purification par filtration sur florisil conduit à 60mg de dérivé diester-cétonique, 21. Les phases aqueuses renferment les deux anomères de l'amino-sucres, N-diacétylés et seront étudiées ultérieurement.

22 Diacétoxy-3 β , 18 prégnane-5 α ol-20

Le diester-cétonique, 21 (62mg) est mis en solution dans 8cm³ d'acide acétique en présence de 30mg de platine d'Adams. Après 24 heures d'agitation sous atmosphère d'hydrogène, on filtre, dilue par de l'eau, puis extrait au chlorure de méthylène 58 mg de 22, dont l'analyse en C. C. M. révèle un mélange de deux alcools épimères en 20 ; ce mélange est immédiatement conduit à l'étape suivante :

23 Diacétoxy-3 β , 18 prégnane-5 α one-20

218mg du diester-alcool, 22, sont dissous dans 12cm³ d'acétone et la solution est refroidie à 0°. On ajoute ensuite goutte à goutte 0,3cm³ du réactif de Jones. Après 5 minutes, l'excès de réactif est détruit par addition de quelques gouttes d'éthanol et le produit est extrait par de l'éther. Les 195mg de résidu sont purifiés par filtration sur 5g de florisil. L'élution à l'éther fournit une laque incolore pure en C. C. M. et pesant 186mg :

I. R. : ν (OAc) 1735, 1250 et 1025cm⁻¹ ; ν (C=O) 1710cm⁻¹.

R. M. N. : CH₃-19, δ à 0,85 ; CH₃-21, δ à 2,22 ; OAc en 18, δ à 1,98 ; OAc en 3, δ à 2,05 ; CH₂-18, système AB à 3,82 et 4,18 (J = 10).

Ce produit n'ayant pas cristallisé, la structure est démontrée par la préparation du méthoxy-20 époxy-18, 20 prégnane-5 α :

24 Hydroxy-3 β méthoxy-20 époxy-18, 20 prégnane-5 α

Le diester-cétonique, 23 (139mg), est dissous dans 5cm³ de dioxanne, on ajoute 2cm³ d'eau et 5cm³ de NaOH 4 N et porte à reflux au bain-marie durant 4 heures. L'extract éthéré fournit 125mg de 24 qui n'est pas purifié plus avant.

25 Hydroxy-3 β méthoxy-20 époxy-20 prégnane-5 α

125mg de l'hémicétal précédent, 24 sont dissous dans 3cm³ de méthanol et l'on ajoute 2 gouttes d'HCl 4N et laisse cristalliser. On essore 76mg d'éther méthylique, 25, qui est obtenu cristallisé dans l'hexane.

$F = 170^\circ, 172^\circ$ $[\alpha]_D + 58^\circ$ (LABLER et SORM indiquent, pour le même produit, préparé à partir de l'holarrhimine, 175° ; $[\alpha]_D + 75^\circ$. De telles différences dans le pouvoir rotatoire d'éther méthylique d'hémicétal 18 $\rightarrow$ 20 sont fréquentes et paraissent dues à une incertitude sur la stéréochimie en 20).

I. R. : $\vee$ (OH) 3300cm⁻¹.

Spectre de masse : C₂₂H₃₆O₃ (348,51) : M⁺ = 348, pics à m/e 316 (M-32, pic de base 7%), 274 (M-32-42, 4%), 259 (M-32-42-15, traces), 241 (M-32-42-15-18, 1%), 43 (6%), pics métastables à : m* 237,6 (316 $\rightarrow$ 274), 244,8 (274 $\rightarrow$ 259), 224,2 (259 $\rightarrow$ 241).

26 O,N-diacétyl-D-holosamine

La N-acétylholantosine B, 16 (100mg), est traitée par 7 ml d'anhydride acétique en présence de 20mg d'acide paratoluène sulfonique. Après 24 heures d'agitation à la température ambiante, on dilue avec de l'eau et extrait par l'éther. La fraction azotée hydro-soluble renfermant les deux anomères, 26 et 27, est reprise par du benzène à chaud, qui, par évaporation sous pression réduite, fournit

45mg de résidu que l'on traite en C. C. M. préparative ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH } 95/5$). Ceci conduit à l'isolement de 18mg de 26 (pur en C. C. M.) qui est obtenu cristallisé dans l'acétone/hexane :

$$F = 145, 148^\circ$$

$$[\alpha]_D + 35^\circ$$

$$[M]_D + 86^\circ$$

Spectre de masse : $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{N}$ (245,27) : $M^+ = 245$, pics à m/e 43 (10%), 56 (4%), 57 (7%), 73 (9%), 84 (2,5%), 98 (3%), 99 (7,5%), 115 (pic de base, 10,5%), 116 (7%), 126 (6,5%), 158 (2,5%), 172 (0,5%), 186 (1%), 186 (1%).

R. M. N. : CH_3 -6, d à 1,20 ; NAc, s à 2,00 ; OAc, s à 2,03 ; OCH_3 , s à 3,42 ; H axial en 1, Dd à 5,90 ($J = 10$, $J' = 2$).

C O N C L U S I O N

L'étude chimique des feuilles de l'Holarrhena antidysenterica Wall. (provenant des Indes) nous a conduits aux résultats suivants :

Douze nouveaux produits ont pu être isolés par chromatographie des dérivés neutres, après acétylation pyridinée des bases totales ; ces produits se répartissent en trois grands groupes qui sont :

ALCALOIDES STEROIDIQUES

- Kurchalimine, 1, dihydroxy-2 α , 16 α méthylamino-3 β prégnadiène-5, 17(20) trans
- Kurcholine, 4, dihydroxy-2 α , 16 α méthylamino-3 β prégnène-5
- Kurchalinine, 8, dihydroxy-2 α , 20 α méthylamino-3 β prégnadiène-5, 16
- Kurchilinine, hydroxy-2 α méthylamino-3 β prégnène-5 one-20
(non décrite ici)
- X₄₆ : C₂₄H₃₇O₂N = 371 (cétone amide)
- X₄₉ : C₂₄H₄₁O₂N = 375 (hydroxy amide)

L'étude de ces deux derniers est en cours.

GENINES

- Anhydroholantogénine, 10
- Holantogénine, 14

AMINO-GLYCO-STEROIDES

- Holantosine A
- Holantosine B
- Holantosine C
- Holantosine D

Les holantosines A, B et D sont
de la série β -D et l'holantosine
C de la série α -L

Les déterminations des structures des alcaloïdes : kurchalimine, kurcholine, kurchalinine, des génines, et des holantosines A et B ont fait l'objet de cette thèse.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 R. GOUTAREL, Les alcaloïdes stéroïdiques des Apocynacées, Hermann Edit., Paris 1964.
- 2 a) - N. G. BISSET, Ann. Bogor., 1958, 3, part 1, p. 105.
b) - N. G. BISSET, Ann. Bogor., 1961, 1, part 2, p. 65.
- 3 M. PICHON, Mém. Mus. Hist. Nat., Paris, 1948, 24, 117.
- 4 L. PIERRE, "Flore forestière de la Cochinchine", Paris, Doin Edit., 1879-1907, 3 V.
- 5 P. DOUK, Contribution à l'étude des plantes médicinales du Cambodge (Thèse Doct. d'Univ. Pharm., Paris, 1966).
- 6 M. H. LECOMTE, Flore générale de l'Indochine, Paris, Masson Edit., 1907.
- 7 Q. KHUONG-HUU et coll., travaux non publiés.
- 8 M. -M. JANOT, P. DEVISSAGUET, Q. KHUONG-HUU, J. PARELLO, N. G. BISSET et R. GOUTAREL, C. R. Acad. Sci., 1968, 266 C, 388.
- 9 M. -M. JANOT, M. LEBOEUF, A. CAVE, R. WIJESEKERA et R. GOUTAREL, C. R. Acad. Sci., 1968, 267 C, 1050.
- 10 F. ARCAMONE, G. CASSINELLI, P. OREZZI, G. FRANCESCHI et R. MONDELLI, J. amer. chem. Soc., 1964, 86, 5334 et 5335.
- 11 a) - M. -M. JANOT, P. LONGEVIALLE et R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim., 1964, p. 1212.
b) - M. -M. JANOT, P. LONGEVIALLE et R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim., 1964, p. 2158.

- c) - P. LONGEVIALLE, Thèse de Doctorat ès-Sciences, Paris, 1965.
- 12 R. HAINES, Trans. Med. Soc. Bombay, 1858, 4, 28 ;
Pharm. J. , 1865, 6, 432.
- 13 a) - S. SIDDIQUI, J. Ind. Chem. Soc. , 1934, 11, 283.
b) - S. SIDDIQUI, Proc. Ind. Acad. Sci. , 1956, 3A , 249.
c) - S. SIDDIQUI, S. C. MISRA et V. SHARMA, J. Sci. ind. Res. , 1954, 3, 555.
- 14 a) - A. BERTHO, G. VON SCHUCKMANN et W. SCHÖNBERGER, Ber. dtsch. Chem. Ges. , 1933, 66, 786.
b) - A. BERTHO, Arch. Pharm. , Berl. , 1939, 277, 237.
c) - A. BERTHO, D. R. P. N° 722.897 du 23 Avril 1940.
- 15 R. D. HAWORTH, J. McKENNA et N. SINGH, J. chem. Soc. , 1949, 831.
- 16 a) - R. TSCHESCHE et R. PETERSEN, Ber. dtsch. Chem. Ges. , 1954, 87, 1719
b) - R. TSCHESCHE et A. C. ROY, Ber. dtsch. Chem. Ges. , 1956, 89, 1288.
c) - R. TSCHESCHE et K. WIENSZ, Ber. dtsch. Chem. Ges. , 1958, 91, 1504.
d) - R. TSCHESCHE et P. OTTO, Ber. dtsch. Chem. Ges. , 1962, 95, 1144.
- 17 L. LABLER, V. CERNY, Chem. Listy, 1957, 51, 2344.
- 18 L. C. CRAIG et D. CRAIG, Technique of Organic Chemistry, 2ème Edit. , vol. 3, part 1, New-York et Londres ; Interscience Publishers, 1956, p. 149-332.
- 19 Q. KHUONG-HUU, C. MONNERET, J. YASSI, R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim. , 1964, p. 2169.
- 20 W. VETTER, P. LONGEVIALLE, F. KHUONG-HUU-LAINE, Q. KHUONG-HUU et R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim. , 1963, p. 1324.
- 21 C. BEARD, J. M. WILSON, H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI, J. amer. chem. Soc. , 1964, 86, 269.

- 22 W.R. BENN et R.M. DODSON, J. org. Chem., 1964, 29, 1142.
- 23 R.F. ZURCHER, Helv. chim. Acta, 1961, 44, 1380.
- 24 K. HEUSLER, P. WIELAND et A. WETTSTEIN, Helv. chim. Acta, 1961, 44, 1374.
- 25 W. ESCHWEILER, Ber., 1905, 38, 880.
- 26 U. EPPENBERGER, W. VETTER et T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta, 1966, 49, 1505.
- 27 Y. SHIMIZU, Y. SATO et H. MITSUHASHI, Chem. pharm. Bull., 1967, 15, 1967.
- 28 L. LABLER et F. SORM, Coll. czech. chem. Comm., 1959, 24, 2975.
- 29 M.-M. JANOT, X. LUSINCHI, L. LABLER et R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim., 1966, p. 3276.
- 30 M.-M. JANOT, Q. KHUONG-HUU, C. MONNERET, I. KABORE, J. HILDESHEIM, S.D. GERO et R. GOUTAREL, Tetrahedron 1969, sous presse.
- 31 W. KLYNE, Biochem. J., 1950, XLi, 47.
- 32 T. REICHSTEIN et WEISS, Adv. in Carbohydrate Chem., 1962, 17, 65.
- 33 J. HILDESHEIM, S.D. GERO, Q. KHUONG-HUU et C. MONNERET, Tetrahedron Letters, 1969, n° 33, p. 2849-2851.
- 34 C.S. HUDSON, Bur. Standards Bull., 1926, 21, 241.
- 35 R.S. CAHN, C.K. INGOLD, V. PRELOG, Exp., 1956, 12, 81.

